

UNTERSUCHUNGEN ZUR MEDIKAMENTÖSEN
BEEINFLUSSUNG DES PLÄTTCHEN-
ANTIFIBRINOLYSINS (-ANTIPLASMIN) BEIM
VON WILLEBRAND-JÜRGENS-SYNDROM

Renate Przybilski

1966

Aus der II. Medizinischen Universitätsklinik

Frankfurt am Main

Direktor: Prof. Dr. Frey

Untersuchungen zur medikamentösen Beeinflussung des Flättchen-Antifibrinolysins (-Antiplasmins) beim von Willebrand-Jürgens-Syndrom

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der gesamten Medizin

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Johann Wolfgang Goethe-Universität

zu Frankfurt am Main

vorgelegt von

Renate Przybilski

aus Jena/Thür.

1965



Dekan: Professor Dr. W. Rotter
Referent: Professor Dr. J. Jürgens
Korreferent: Professor Dr. Wacker
Mündliche Prüfung: 18.10.1966

Einführung und Problemstellung	1
--------------------------------------	---

Allgemeiner Teil

I. Das von Willebrand-Jürgens-Syndrom.....	3
II. Die Inhibitoren des fibrinolytischen Systems..	14
1. Das Plasma-Antiplasmin.....	17
a) der "immediate" Inhibitor.....	17
b) der "slow" oder "progressive" Inhibitor	18
2. Das Plättchen-Antiplasmin.....	20

Spezieller Teil

I. Der verminderte Plättchen-Antiplasmin-Gehalt beim von Willebrand-Jürgens-Syndrom.....	25
II. Das Hämostatikum "Vaskular Factor".....	27
III. Methoden und Reagentien.....	29
1. Bestimmung der Blutungszeit nach Duke.....	29
2. Volumetrische Messung der Retraktion nach J. Jürgens.....	29
3. Globale Plättchenfunktionsprüfung mit der Rotationsthrombelastographie nach J. Jürgens.....	30
4. Bestimmung der Plättchenadhäsivität nach J. Jürgens.....	31
5. Herstellung der Reagentien.....	33
6. Bestimmung des Plättchen-Antiplasmins.....	34
IV. Beschreibung der Patienten und Ergebnisse der Therapie mit "Vascular Factor".....	35
V. Diskussion.....	46
<u>Zusammenfassung</u>	51
Literaturangaben.....	54

Einleitung und Problemstellung 1

Erster Teil

1. Das von Hilbert und Skolem-Studium 1

2. Die Inhibitoren des klonalen Systems 1

3. Die klonale Inhibition 1

4. Die "immediaten" Inhibitoren 1

5. Die "alten" oder "gründenden" Inhibitoren 1

6. Das klonale Inhibitionssystem 1

Zweiter Teil

7. Die verschiedenen klonalen Inhibitionssysteme 1

8. Die klonale Inhibition 1

9. Die klonale Inhibition und die klonale Inhibition 1

10. Die klonale Inhibition und die klonale Inhibition 1

11. Die klonale Inhibition und die klonale Inhibition 1

12. Die klonale Inhibition und die klonale Inhibition 1

13. Die klonale Inhibition und die klonale Inhibition 1

14. Die klonale Inhibition und die klonale Inhibition 1

15. Die klonale Inhibition und die klonale Inhibition 1

16. Die klonale Inhibition und die klonale Inhibition 1

17. Die klonale Inhibition und die klonale Inhibition 1

18. Die klonale Inhibition und die klonale Inhibition 1

19. Die klonale Inhibition und die klonale Inhibition 1

20. Die klonale Inhibition und die klonale Inhibition 1

21. Die klonale Inhibition und die klonale Inhibition 1

22. Die klonale Inhibition und die klonale Inhibition 1

23. Die klonale Inhibition und die klonale Inhibition 1

24. Die klonale Inhibition und die klonale Inhibition 1

25. Die klonale Inhibition und die klonale Inhibition 1

Einführung und Problemstellung

Die Behandlung der Thrombopathie von Willebrand-Jürgens stellt ein besonderes Problem dar. Die Transfusion funktionstüchtiger Thrombozyten gelingt wegen der kurzen Lebensdauer der Blutplättchen nur selten. Ausserdem werden die Erfolge der Transfusionen unterschiedlich beurteilt.

Skandinavische Autoren, wie Nilsson und Mitarbeiter (52,53) beschrieben gute Ergebnisse mit Transfusionen von Cohn's Fraction I-0. Es gelang ihnen mit dieser Methode der Therapie, die verlängerte Blutungszeit zu verkürzen.

Oedegaard, Skalhegg und Hellem (58) konnten durch eine Transfusion von 450 ml diabetischen Plasmas die Blutungszeit eines Patienten mit von Willebrand-Jürgens-Syndrom verkürzen.

Diese Resultate wurden von Rudolf Marx und G. Jean (47) nicht erzielt, und auch Borchgrevink und Mitarbeiter (9) konnten keine Normalisierung der Blutungszeit mit Plasmainfusionen und Transfusionen von Cohn's Fraktion I-0 erreichen.

In den letzten Jahren wurden in der II. Medizinischen Klinik der Universitätskliniken Frankfurt gute therapeutische Erfolge mit dem Hämostatikum Vascular Factor von der Firma Lab. Chim. Farm., V. Baldacci, Pisa, verzeichnet (18).

Dieses Präparat weist bei einer genauen Dosierung eine hohe Wirksamkeit im Sinne einer Blutstillung bei den hämorrhagischen Diathesen, die durch eine Verlängerung der Blutungszeit charakterisiert sind, auf. Theoretisch war es nicht möglich, diesen hämostatischen Effekt ausreichend zu erklären, da dieses Medikament nach Definition der Hersteller nur an

den Gefäßen angreifen und nicht das Gerinnungssystem selbst beeinflussen soll. Ebenfalls auf die verschiedenen Plättchen-Faktoren war kein Einfluss nachweisbar (18).

Bei Untersuchungen dieses Medikamentes "Vascular Factor" + in vitro konnten wir feststellen, dass es eine Antiplasmin-Wirkung besitzt. Da bekannt ist, dass beim von Willebrand-Jürgens-Syndrom das Plättchen-Antiplasmin vermindert ist (23), lag es nahe zu prüfen, ob nach Injektion des Präparates der Plättchen-Antiplasmin-Gehalt vermehrt wird oder nicht. Dabei konnten wir feststellen, dass bei genauer Dosierung des Medikamentes eine Anreicherung der Thrombozyten mit Antiplasmin erfolgt, d.h. die verlängerte Blutungszeit eines Patienten mit von Willebrand-Jürgens-Syndrom konnte durch Injektion von "VF" verkürzt und zum gleichen Zeitpunkt der Antiplasmingehalt der Thrombozyten wesentlich erhöht werden. Neben dieser wichtigen Feststellung wurde als Ergebnis der im folgenden beschriebenen Untersuchungen ermittelt, dass dieser Zustand reversibel ist, dass also mit dem Abklingen der therapeutischen Wirkung auch der Antiplasmingehalt der Thrombozyten auf den ursprünglichen Wert absinkt.

Die vorliegende Arbeit nimmt als Ausgangspunkt die Schilderung des von Willebrand-Jürgens-Syndroms und befasst sich dann mit den Inhibitoren des fibrinolytischen Systems, der Darstellung der Versuchsanordnung und mit den Resultaten der Therapie mit "Vascular Factor".

+ Versuchspräparat der Fa. Lab. Chim. Farm. Baldacci, Pisa

Das von Willebrand - Jürgens - Syndrom

Im Jahre 1926 beschreibt von Willebrand ein Blutungsübel, das er auf eine Funktionsstörung der Thrombozyten und eine Minderwertigkeit der Gefässe zurückführt (68). Diese Erkrankung entdeckt er bei einer Familie auf den Aalandinseln, bei der von 56 Mitgliedern 23 erkrankt waren. Er gab diesem Leiden zunächst den Namen "Hereditäre Pseudohaemophilie".

Aufgrund weiterer Untersuchungen der Patienten auf den Aalandinseln veröffentlichte von Willebrand zusammen mit R. Jürgens 1933 eine Arbeit mit dem Titel: "Ueber ein neues vererbbares Blutungsübel: Die konstitutionelle Thrombopathie" (69). Die Krankheit wird darin folgendermassen geschildert: bei geringsten Traumen oder aber auch spontan treten Blutungen auf. Sehr häufig sind Nasenbluten, Zahnfleischbluten, besonders nach Zahnextraktionen, sowie Blutungen aus dem weiblichen Genitale, dem Magen-Darm-Kanal und den Harnwegen. Sehr lange Nachblutungen bei Verletzungen sind nicht ungewöhnlich, während Blutergelenke, wie man sie häufig bei der Hämophilie beobachtet, sehr selten anzutreffen sind. Dagegen sind Hautblutungen und Hämatome im Unterhautgewebe und in Muskeln recht häufig zu finden.

Als auffallend schildern von Willebrand und R. Jürgens die Tatsache, dass das Krankheitsbild im Schweregrad bei ein und derselben Person grösseren Schwankungen unterworfen sein kann. So berichten sie, dass Frauen, die an dieser Krankheit leiden, über lange Zeit hinweg normale Menstruationsblutungen haben, und plötzlich an einer sehr heftigen Mensis verbluten können. Dasgleiche gilt auch

für Geburten. Es ist möglich, dass eine Patientin mehrere normale Geburten gehabt hat und schliesslich an einer Blutung unter der Geburt zugrunde gehen kann.

Die Manifestation des dominant vererbbaeren Blutungsübhels erfolgt meist im Kindesalter, aber auch in der Pubertät, während mit zunehmendem Alter die Blutungsbereitschaft stark vermindert ist.

Als Ergebnis der hämatologischen Untersuchungen fanden von Willebrand und R. Jürgens ein normales Blutbild und eine normale Thrombozytenzahl, die auch während einer Blutungsperiode nicht absank, sondern eher etwas anstieg. Ebenso war die Form der Thrombozyten im Lichtmikroskop nicht auffällig, jedoch fanden sie reichlich grosse, mittelgrosse und kleine Blutplättchen, die zum Teil recht deutlich ausgebildete Azurgranulation aufwiesen.

Die Blutungszeit, Bestimmung nach Duke, war fast in allen Fällen verlängert, in manchen sogar unendlich gross.

Während die Bestimmung der Gerinnungsfähigkeit und der Retraktion im allgemeinen ein normales Ergebnis brachten, war die Agglutinationsfähigkeit der Thrombozyten herabgesetzt.

Zur Pathogenese der konstitutionellen Thrombopathie schreiben von Willebrand und R. Jürgens folgendes: "Die Verlängerung der Blutungszeit bei normaler Plättchenzahl liess uns daran denken, dass die Fähigkeit zur Verklebung der Plättchen untereinander mit den anderen Blutelementen und mit der Gefässwand gestört sein könnte". An einer anderen Stelle heisst es: "Als Ursache dieser Veränderung muss eine erbliche degenerierte Anlage angenommen werden, die den Plättchen - Gefässapparat partiell betrifft".

Von Willebrand und R. Jürgens gelangten demnach zu der Auffassung, dass die konstitutionelle Thrombopathie eine vorwiegend thrombozytogen bedingte Krankheit sei, bei der eine Beteiligung der Gefäße in Betracht gezogen werden kann.

In der folgenden Zeit wurde diese These Gegenstand heftiger Diskussionen.

So vermutet MacFarlane (46), dass das von Willebrand-Jürgens-Syndrom auf einer Gefäßfunktionsstörung beruhe. Er kam nach Untersuchungen der Kapillarfunktionen zu diesem Ergebnis.

Biggs und MacFarlane (7) entdeckten, dass bei dieser hämorrhagischen Diathese sehr häufig ein Faktor VIII-Mangel zu finden ist, und neben ihnen vertraten einige Autoren die Ansicht, dass das von Willebrand-Jürgens-Syndrom eine Form der Hämophilie sei. Auch Achenbach und Klesper (1) hielten eine Beteiligung der Thrombozyten am Krankheitsbild für unwahrscheinlich und nannten es Angiohämophilie A und B, indem sie es nach dem Typ der Plasmokoagulopathie differenzierten.

1957 untersuchten Nilsson und Mitarbeiter (52) 15 Patienten mit Morbus von Willebrand-Jürgens auf den Ålandinseln. Bis auf einen Patient hatten alle einen verminderten Faktor VIII-Spiegel im Blut, der zwischen 30 und 60% lag. Die Gerinnungszeit, der Prothrombinverbrauch, wie auch die Faktoren I, III, IV, V, VII und IX wurden normal gefunden. Die Zahl der Thrombozyten war nicht vermindert und die Rekalzifizierungszeit war nur bei einigen Plasmen leicht verlängert. Für die Blutungszeit ermittelten die Autoren unterschiedliche Werte. Nur bei zwei Patienten stellten sie eine ausgesprochen verlängerte Blutungszeit fest.

Bei 3 Patienten lag die Blutungszeit zwischen 8 und 14 Minuten, bei den restlichen Personen war sie normal. Sie gelangten im übrigen zu der Ueberzeugung, dass nur die Thrombopathiekranken manifeste Blutungen bekommen, deren AHG - Gehalt im Blut unter 20% liegt.

Bei einer Patientin konnte die Blutungszeit, die zwischen 70 und 120 Minuten lag, durch Transfusion von Plasma-Fraktion 1-0 normalisiert werden. Diese Transfusion enthielt 3,6g Protein und eine AHG-Aktivität, die 1800 ml Blut entsprochen hätte. 24 Stunden nach der Infusion betrug die Blutungszeit 2 Minuten, nach 60 Stunden 6 Minuten. Parallel zu dieser Verkürzung der Blutungszeit verlief der Anstieg des Faktor VIII - Gehaltes des Blutes von 30 auf 82%.

Diese Therapie hatten Nilsson und Mitarbeiter (54) bereits in Schweden mit Erfolg angewandt, wobei sie die Bluterkrankheit in Schweden und die von Willebrand-Jürgens-Disease auf den Aalandinseln für verwandte Krankheitsbilder halten, die sich im Ausdruck des klinischen Bildes, der Blutgerinnungsanalyse und der Wahl der Therapie gleichen.

In einer späteren Arbeit beschreiben Nilsson und Mitarbeiter (55) die erfolgreiche Therapie mit Human-Fraktion 1-0 bei 16 Patienten mit von Willebrand-Jürgens-Syndrom. Dabei konnte die Blutungszeit normalisiert werden, der Wert von AHG stieg an und chirurgische Eingriffe konnten ohne ungewöhnlich starke Blutungen und Bluttransfusionen vollzogen werden. Dagegen konnte mit einer Thrombozytentransfusion kein positiver Effekt erzielt werden.

Aufgrund dieser Ergebnisse klammern die Autoren einen Defekt der Gefäße und eine Beteiligung der Thrombozyten am Entstehen dieser hämorrhagischen Diathese an und halten

den Mangel eines plasmatischen Faktors, des "Antiblutungsfaktors" für die Ursache dieses Blutungsfehlers. Nach Nilsson und Mitarbeitern soll dieser "Antiblutungsfaktor" nicht mit AHG oder Fibrinogen identisch sein, aber in der Plasmafraktion 1-0 nach Cohn enthalten sein.

Nach Egeberg (14, 15) soll körperliche Anstrengung gesunder Personen deren Blutungszeit verkürzen. Infundiert man das Blut dieser trainierten Menschen Patienten mit von Willebrand-Jürgens-Syndrom, so kann man nach Egeberg beobachten, dass sich die verlängerte Blutungszeit normalisieren lässt.

Andere Autoren, wie z.B. Biggs und Matthews (8) bestätigen dies und konnten bei einem Patienten mit Faktor VIII-Mangel im Blut den Gehalt an AHG durch körperliche Betätigung anheben. Sie vermuten einen Faktor-VIII-stimulierenden Faktor im Blute, der bei Patienten mit Hämophilie A in noch wirksamerer Form vorhanden sei als im Blute der gesunden Menschen.

Zu diesem Thema schreiben R. Marx und G. Jean (47): "Der Antiblutungsfaktor von Nilsson (53) wird demnach von Biggs und Matthews als Faktor VIII-Produktions-Kontrollfaktor aufgefasst, und der Plasma- und Plasmaprodukt-Blutstillungseffekt beim Morbus von Willebrand-Jürgens vorwiegend damit in Zusammenhang gebracht". Und weiter heisst es: "Unsere eigenen Untersuchungen erlauben bezüglich eines "stimulating factor" (der am besten bei von Willebrand-Jürgens-Patienten mit tiefem Faktor VIII-Spiegel getestet werden kann), keine Aussage, bestätigen aber die Beobachtungen von Biggs und Matthews, dass in vitro bei Mischung von Plasmen von von Willebrand-Jürgens-Fällen mit geringer Faktor VIII-Aktivität und Hämophilie A-Plasmen im Biggs-Test keine deutbare Normalisierungstendenz zu beobachten ist".

Im Jahre 1957 veröffentlichten Jürgens, Lehmann, Wegelius, Eriksson und Hiepler (35) eine Arbeit mit dem Titel: "Mittteilung über den Mangel an antihämophilem Globulin (Faktor VIII) bei der aaländischen Thrombopathie (von Willebrand-Jürgens)". Sie konnten zum ersten Male auch bei diesen Patienten in einigen Fällen eine Verminderung des Faktor VIII-Spiegels im Blute nachweisen.

Lehmann (40) schreibt hierzu zwei Jahre später: "Wir haben nun bei unseren neueren Untersuchungen bei einigen Patienten einen Mangel an Faktor VIII (AHG) von 10 bis 70% der Norm feststellen können". Weiterhin heisst es: "Wir erinnern daran, dass im Gegensatz hierzu bei der Hämophilie mit extrem niedrigem Faktor VIII-Gehalt die Blutungszeit normal ist. Ueber die Rolle des Faktor VIII-Mangels in der Pathogenese der Thrombopathie (von Willebrand-Jürgens) besteht noch keine Klarheit, bei der die Störung der Thrombozytenfunktion ein wichtiges Merkmal ist".

Zur Pathogenese dieser Krankheit schreibt Lehmann (40): "Die erbbiologische Analyse unserer Blutungsfamilien ergibt eine autosomal einfach-dominante Vererbung der aaländischen Thrombopathie. Wenn man von der Vorstellung ausgeht, dass der Ablauf der normalen Blutgerinnung auf einer Genwirkkette beruht, und die verschiedenen hämorrhagischen Diathesen durch Mutation der den Diathesen zugrundeliegenden Genen entstehen, ist die Annahme berechtigt, dass die genbedingte normale Thrombozytenfunktion in gleicher Weise durch Mutation eine Störung erfährt und somit die Thrombopathie (von Willebrand-Jürgens) hervorruft. Der bei der Thrombopathie ebenfalls beobachtete genbedingte Faktor VIII-Mangel, der offenbar in der Pathogenese dieses Blutungsübels eine Rolle spielt, ist mutativ entstanden zu denken".

Untersuchungen der Ultrastruktur der Thrombozyten von R. Jürgens und H. Schulz (36) bestäetigen die bereits früher geäußerte Annahme, dass die Blutplättchen beim von Willebrand-Jürgens-Syndrom pathologische Veränderungen erfahren haben. Neben einer Anisocytose fanden sie eine Schädigung des Granulomers alpha, sowie sehr häufig Trommelschlegelgranula. Mitochondrien und Cytosomen mit gespeichertem Ferritin waren nur selten aufzufinden. Für eine vaskuläre Schädigung sprachen Endothelblasen, die in der Thrombozytenfraktion aufgefunden wurden. Das Resumé dieser Untersuchungen lautet: "Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen beweisen, dass es sich bei der aaländischen Blutungskrankheit im wahren Sinne des Wortes um eine echte Thrombopathie handelt, wie von Willebrand und Jürgens schon 1933 behauptet hatten".

R. Marx und G. Jean (47) bestätigten in ihrer neuesten Arbeit diese Veränderung an den Thrombozyten. Anisocytosen, wie die Verminderung von Mitochondrien, Hypervakuolisierung und Abweichungen im Glykogengehalt deuten sie als einen eventuellen "Ausdruck individueller Expressionsdifferenzen der von Willebrand-Jürgens-Anlagen" oder aber als "individuelle, genunabhängige Störungen", während die abnorme dichte Granula und die Fettröpfchen im Hyalomere der Thrombozyten konstant bei der konstitutionellen Thrombopathie aufzufinden sind und als Merkmal derselben zu werten sind. Nach R. Marx und G. Jean (47) ist es möglich, die konstitutionelle Thrombopathie (von Willebrand-Jürgens) zunächst in drei Gruppen einteilen: 1. Patienten mit Faktor VIII-Mangel, 2. Patienten mit Faktor IX-Minderung, 3. Patienten mit Faktor VIII- und Faktor IX-Minderung. Sie vermuten, dass es nach folgenden

Untersuchungen möglich sein wird, noch weitere Krankheitstypen dieses Syndroma zu differenzieren.

Es kann demnach kein Zweifel daran bestehen, dass bei diesem Krankheitsbild eine plasmatische Gerinnungsstörung besteht, die durch einen Mangel des Faktor VIII - Prinzips hervorgerufen wird. J. Jürgens und R. Jürgens konnten aber mit Hilfe spezifischer Plättchenfunktionsprüfungen nachweisen, dass zusätzlich beim von Willebrand-Jürgens-Syndrom eine erhebliche Insuffizienz der Thrombozyten vorliegt. Bei Frankfurter Patienten waren der Heparintoleranztest, wie auch der Frothrombinverbrauch pathologisch, und der Faktor VIII-Gehalt herabgesetzt. Die Untersuchung der Plättchenfunktionen ergab, dass die Retraktion des Gerinnsels zum Teil deutlich gestört war. Das Thrombelastogramm nach der Methode von Hartert (21) war bei diesen Patienten normal, während das Rotationsthrombelastogramm nach J. Jürgens (26,27) eine pathologische Plättchenadhäsivität und eine pathologische Plättchenagglomeration aufzeigte.

Demzufolge schreiben sie: "Unsere Ergebnisse sprechen jedoch dafür, dass es wenig berechtigt ist, bei einer verlängerten Blutungszeit, normaler Thrombozytenzahl und einem Mangel an Faktor VIII, ohne das Vorliegen zuverlässiger, spezifischer Plättchenfunktionsprüfungen, einen Funktionsdefekt der Thrombozyten ausschliessen zu können".

Spätere Untersuchungen von J. Jürgens (25) ergaben, dass auch Beziehungen zwischen den Veränderungen der Blutplättchen und kongenitalen Herzfehlern, sowie angeborenen Gefässanomalien herzustellen sind. Dies zeigt sich bei Patienten mit kongenitalen Herzfehlern, bei denen häufig zusätzlich eine hereditäre Thrombopathie nachgewiesen werden konnte.

In den letzten Jahren wurden von Lehmann, J. Jürgens und Eriksson (41) dieselben Plättchenfunktionsprüfungen auch bei den Patienten auf den Aalandinseln, die teilweise bereits von

v. Willebrand und Jürgens untersucht worden waren, durchgeführt.

Die Resultate sind folgende: Neben einer meist verlängerten Blutungszeit war die Retraktionsfähigkeit des Gerinnsels oft herabgesetzt und konnte nicht durch Zugabe von Gewebethromboplastin normalisiert werden, während dies bei schweren Fällen von Hämophilie möglich ist. Der Mangel an Faktor VIII war mehr oder weniger deutlich ausgeprägt, das Thrombelastogramm dagegen in der Mehrzahl der Fälle normal. Die Plättchenadhäsivität war bei 18 von 19 Patienten pathologisch, die Plättchenagglomeration im Citrat-Plasma gestört und das Rotationsthrombelastogramm bei 14 von 16 untersuchten Personen pathologisch.

Von grosser Bedeutung für die Diagnose des von Willebrand-Jürgens-Syndrom ist neben der Bestimmung der Blutungszeit vor allem die Bestimmung der Plättchenadhäsivität. Sie ist eine spezifische Funktion der Thrombozyten und bedeutet nach J. Jürgens (41) "die Adhäsion der Blutplättchen an der Glasoberfläche, die Agglomeration derselben dagegen die Verklumpung im Plasma". Die beiden verwandten Phänomene haben verschiedene Ursachen und treten demzufolge nicht immer zur gleichen Zeit auf.

Auch andere Autoren fanden bei derartigen Untersuchungen eine herabgesetzte Plättchenadhäsivität am Glas.

So benutzte Hellem (22) für seine in vitro Untersuchungen mit der Glas-Perlen-Filter Methode Citratblut und stellte bei 5 von 15 Patienten mit konstitutioneller Thrombopathie eine verminderte Adhäsivität fest. Zucker (72) bestätigte eine herabgesetzte Plättchen-Adhäsivität bei 2 von 4 Personen nach der Methode von Hellem.

Durch Zugabe von frischem Normalplasma konnte sie bei diesen

Patienten eine normale Plättchen-Adhäsivität herstellen.

Nach Salzmann (61) ist im Nativblut der an hereditärer Thrombopathie Erkrankten, die Adhäsivität der Thrombozyten gleich Null.

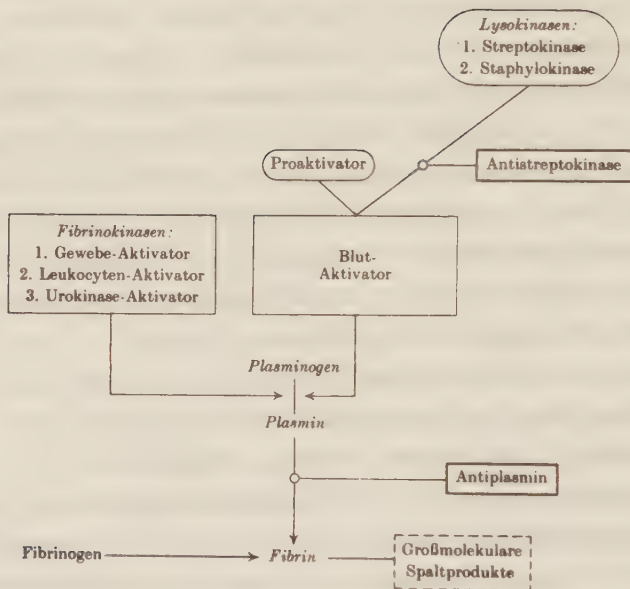
Gaarder und Mitarbeiter (20) beschrieben im Jahre 1961, dass durch das ADP die Plättchenaggregation ausgelöst werden kann. Untersuchungen von Oedegaard, Skallehgg und Hellem zeigten, dass dieses Phänomen für die Bestimmung der Plättchenadhäsivität verwendet werden kann (58). Primär führt das ADP zur Aggregation der Thrombozyten, wobei die Plättchenaggregate an der Glasoberfläche hängen bleiben, und somit der Adhäsivitätseffekt erfasst werden kann. Die Autoren zeigten, dass die durch ADP induzierte Adhäsivität der Thrombozyten ihrer Patienten mit von Willebrand-Jürgens-Disease bei Konzentrationen von 0.65 und 0.025ng ADP / ml Plasma 0 war, während diese beim Gesunden 25, bzw. 12% betrug. Sie betrachten dieses Ergebnis als wertvollen Test für die genaue Differenzierung der Thrombopathien, wie dies bereits Vainer und Caen (67) 1963 empfohlen hatten. Aufgrund weiterer Untersuchungen stellten sie fest, dass die Blutplättchen von Menschen, die an Diabetes erkrankt sind, eine wesentlich höhere Adhäsivität aufweisen als die von Gesunden, und demzufolge auch in weitaus vermehrter Masse als bei von Willebrand - Jürgens - Patienten. Den Grund für diese Eigenschaft der Thrombozyten von Diabetikern sehen sie in einem plasmatischen Faktor, der im diabetischen Blut vermehrt vorhanden sein soll, während er im Blut der von Willebrand-Jürgens-Patienten fehle, bzw. stark reduziert sein soll. Daraus resultiert auch der Name des Faktors, nämlich "Anti - Willebrand - Factor". Die weiteren Ergebnisse dieser in vitro Untersuchungen zeigen, dass die Plättchen - Adhäsivität bei von Willebrand - Jürgens - Disease von Null auf 13% ansteigt, wenn man zu den von Willebrand-Jürgens-Plättchen normales Plasma hinzugibt. Der Effekt wird wesentlich

gesteigert, gibt man anstatt des Normalplasmas zu den Thrombozyten der konstitutionellen Thrombopathie plättchenarmes Plasma von Diabetikern. Der Anstieg der Adhäsivität beträgt in diesem Falle 0% auf 24%. Die Auffassung von Odogaard, Skalhegg und Hellem geht nun dahin, dass das Normalplasma und insbesondere das diabetische Plasma einen Faktor enthalten, der die ADP induzierte Plättchen-Adhäsivität stark beeinflusst. Diese in vitro Versuche konnten durch in vivo Untersuchungen bestätigt werden. Bei einer Patientin mit gynäkologischen Blutungen und einer Plättchenadhäsivität von 0% verkürzte eine Infusion von 450ml diabetischen, plättchenarmen Plasmas die Blutungszeit von über 30 Minuten auf 20 Minuten und die Blutung stand während 4 Tagen. Dagegen zeigte eine spätere Transfusion von Normalplasma nicht diesen Erfolg.

Mit diesen Resultaten unterstreichen die Autoren ihre frühere Auffassung, dass die gestörte Plättchenfunktion durch einen Defekt eines plasmatischen Faktors bedingt sei.

Zur Pathogenese dieses Krankheitsbildes schreibt J. Jürgens:(23)

"Sehr wahrscheinlich jedoch kommt das von Willebrand-Jürgens-Syndrom mit seiner charakteristischen Symptomatologie durch verschiedene, uneinheitliche und ganz unterschiedlich kombinierte pathogenetische Faktoren zustande. Hierbei handelt es sich um Gefäßanomalien. Mangel an plasmatischen Faktoren - die sowohl eine Störung der Blutgerinnung als auch der Plättchenfunktion verursachen können - als auch morphologisch fassbare Anomalien der Thrombozytenstruktur. Es braucht sich dabei anscheinend nicht immer um eine Beteiligung aller drei Systeme zu gleicher Zeit zu handeln (Plasmo-Teleangio-Thrombopathie (59)), sondern es kann die Kombination von Gefäßanomalien mit einer plasmatischen Störung (Plasma-Teleangiopathie, Vascular Hemophilia, Angiohäphilie (62) eben-



Alb. 1 Die Fibrinolyse und ihre Inhibitoren (31)

falls zu der gleichen Symptomatologie führen.

Die unterschiedlichen Ansichten, insbesondere über die Beteiligung einer Plättchenfunktionsstörung, beruhen daher möglicherweise darauf, dass bei der vielfachen Beschreibung des Krankheitsbildes keineswegs immer die gleichen Fälle, sondern uneinheitliche pathologische Kombinationsdefekte vorlagen".

Die Inhibitoren des fibrinolytischen Systems

Ein wichtiger Beitrag zur Klärung der Pathogenese des von Willebrand-Jürgens-Syndroms ist die Arbeit von J. Jürgens (23) über die Verminderung des Plättchen-Antiplasmins- eines der Inhibitoren des fibrinolytischen Systems - bei diesem Krankheitsbild. Aus diesem Grunde wollen wir uns zunächst mit den bisher bekannten Antiplasminen des menschlichen Blutes befassen, nämlich zuerst mit den Plasma-Antiplasminen und anschliessend mit dem Plättchen-Antiplasmin.

"Im fibrinolytischen System besitzt der menschliche Körper einen wichtigen Mechanismus, der in Entstehung begriffene endovasale Thromben wieder aufzulösen vermag. Der Zustand des dynamischen Gleichgewichtes zwischen Fibrinbildung und -auflösung an der Gefässinnenwand stellt eine ständig wechselnde Kette von Aktivierung bzw. Inaktivierung bestimmter Fermente dar" (38). Das Plasminogen ist die inaktive Vorstufe des fibrinolytischen Enzyms Plasmin, das Globulincharakter aufweist und das Fibrin proteolytisch in Polypeptide aufspaltet. Ausserdem werden auch Fibrinogen, die Gerinnungsfaktoren V, VIII, ACTH, Glukagon, Kasein, Gelatine, Lactoglobulin

und das somatotrope Hormon von Plasmin verdaut.

Im Blut und im Gewebe lokalisierte Aktivatoren vermögen die Umwandlung des Plasminogens in Plasmin einzuleiten. Neben diesen Substanzen sind weitere körpereigene und auch körperfremde Substanzen fähig, den proteolytischen Prozess der Umwandlung des Profermentes in das Ferment zu aktivieren; dazu gehören unter anderem die Nikotinsäure und ihre Derivate, Pyrogene, Thrombin E, Harnstoff - und therapeutisch von grosser Wichtigkeit ist die Streptokinase.

Der genaue enzymatische Vorgang der Aktivierung der Fibrinolyse durch Streptokinase ist noch nicht bekannt. Astrup (4) vertritt die Auffassung, dass die Streptokinase zusammen mit dem Proaktivator den Aktivator bildet und auf diese Weise der gerinnselauflösende Prozess beginnt.

Nach J. Jürgens (32) kann man die Fibrinolyse unter der Streptokinase-Infusion in drei Stadien einteilen.

1. Das Stadium der Hyperkoagulämie ist dadurch gekennzeichnet, dass die Inhibitoren, also die Immun-Antistreptokinase, die nach Streptokokken-Infektion und vorhergegangenen SK-Infusionen besonders reichlich vorhanden ist, und als weiterer Hemmkörper die Antiplasmin (31), überwunden werden müssen. Dieses Stadium ist durch eine Verkürzung der Rekalzifizierungszeit, der r-Zeit im Thrombelastogramm und des Quickwertes gekennzeichnet.

2. Das zweite Stadium wird das Stadium der Hyperplasminämie genannt. Es ist durch die erfolgte Absättigung der Inhibitoren charakterisiert, so dass nun freies Plasmin im Blut anzutreffen ist, und die Lyse des Thrombus beginnt. Im Thrombelastogramm kann man diesen Zustand an der Spindelform der Kurve erkennen.

3. Während im zweiten Stadium der Körper noch in der Lage ist, Plasminogen fortlaufend an das Blut abzugeben, ist ein Merkmal des dritten Stadiums die Erschöpfung des Plasminogens und die Polymerisationsstörung des Fibrinogens. Der vollständige Verbrauch des Plasminogens zeigt sich durch das völlige Fehlen desselben im Blut und das Vorhandensein grösserer Mengen Aktivator. Naturgemäss ist auch kein freies Plasmin im Blut mehr nachweisbar, jedoch können bei nun weiter erfolgreicher Infusion von Streptokinase die geringen Mengen freien Plasmins das Fibrinogen in grossmolekulare Spaltprodukte umwandeln, die ihrerseits eine normale Polymerisation des Fibrinogens verhindern, bzw. hemmen.

Wie oben bereits erwähnt, spielen beim Ablauf der Fibrinolyse die Inhibitoren eine bedeutende Rolle und sind aus diesem Grunde seit vielen Jahren Gegenstand eingehender Untersuchungen.

Nach Moriau, de Vries und Dik (50) kann man zwei grosse Gruppen von Inhibitoren der Fibrinolyse unterscheiden. Die erste Gruppe wird von den Antiproaktivatoren und den Antiaktivatoren der Plasminogen-Plasmin-Umwandlung gebildet. Zu ihnen gehören die Antistreptokinase, die Antiurokinase und organische Substanzen, von denen als wichtiger Vertreter die Epsilon-amino-capronsäure zu nennen ist.

Sherry und Mitarbeiter (65) beschrieben einen in vivo Aktivator des Plasminogens, der jedoch noch nicht dargestellt werden konnte. Ein Inhibitor dieses Plasminogenaktivators wird vermutet, konnte aber bisher ebenfalls noch nicht isoliert werden. Die zweite Gruppe wird von den Antiplasminen gebildet, die wiederum in mehrere Typen unterteilt werden können.

1. Das Plasma-Antiplasmin

Shulman (63) beschrieb bereits im Jahre 1952 zwei Plasma-Antiplasmine. Andere Autoren halten dagegen die Existenz von mehreren Inhibitoren der Fibrinolyse für wahrscheinlicher. Ratnoff, Lepow und Pillemer (60) nennen drei Plasma-Antiplasmine, Fletcher und Sherry (16) vier im Plasma lokalisierte Antiplasmine, während Marx (48) sogar 7 Hemmstoffe der Fibrinolyse als vorhanden bezeichnet.

In einer ausführlichen Untersuchung definiert Norman (56,57) zwei in ihrer Wirkungsweise unterschiedliche Plasma-Antiplasmine. Nach den Eigenschaften nennt er das eine den "immediate" Inhibitor, das zweite dagegen bezeichnet er als "slow" oder "progressive" Inhibitor. Die chemischen und physikalischen Differenzen der beiden bestehen nach Norman im folgenden:

a) Der "immediate" Inhibitor

reagiert, wie der Name bereits andeutet, schnell mit dem Plasmin und geht mit diesem eine reversible Bindung ein. Dass diese Reaktion tatsächlich reversibel ist, beweist Norman durch folgenden Versuch:

Bei unverändertem Gehalt an Plasma, bzw. Antiplasmin, wird die Menge des Substrates, also des Caseins erhöht. Der Erfolg ist eine verminderte Hemmung des Enzyms Plasmin durch das Plasma-Antiplasmin.

Dieser Vorgang findet seine Erklärung darin, dass er als kompetitive oder konkurrierende Hemmung gedeutet wird, d.h., es besteht eine Konkurrenz zwischen dem Substrat (Casein) und dem Inhibitor (Antiplasmin) um das "Aktivitätszentrum" oder die essentielle Gruppe des Enzyms. Unter Umständen können Fermente Stoffe binden, die eine dem Substrat ähnliche

Konstitution besitzen, ohne dass eine Reaktion eintritt. Diese Stoffe besitzen eine genügende Affinität zum Ferment, dass sie sich an Stelle des Substrates mit dem Ferment verbinden können, aber ihre chemische Struktur erfüllt nicht die Bedingungen, die zum Eintritt der Fermentreaktion nötig sind (42). Nach der Entfernung des Hemmstoffes gewinnt das Ferment seine volle Aktivität zurück, d.h. der Vorgang ist reversibel.

Eine weitere Eigenschaft des "immediate" Plasma-Antiplasmins ist seine Fähigkeit, unabhängig von der Temperatur wirksam zu werden. Bei Erhitzen bis auf Temperaturen von 56°C ist es völlig stabil, dagegen oberhalb von 60°C wird der Inhibitor langsam zerstört, wobei nach 60 Minuten noch 50% seiner Aktivität erhalten sind und diese nach längerdauernder Hitzeeinwirkung von 60°C auch nicht zerstört werden.

Dieser Befund konnte von Shulman (63) bestätigt werden.

Mit Hilfe der Elektrophorese lokalisierte Norman den "immediate" Inhibitor vorwiegend im Bereich der α_2 -Globuline und nannte ihn danach auch α_2 -Antiplasmin.

Von diesem "Immediate" Antiplasmin unterschied der Autor den

b) "slow" oder "progressive" Inhibitor

Dieser Hemmstoff entfaltet mit dem Plasmin in vitro seine Wirksamkeit langsamer und ist abhängig von der Höhe der Temperatur. Bei 0°C ist keine Reaktion feststellbar, während mit steigender Temperatur auch eine schnell ansteigende Reaktionsfähigkeit nachzuweisen ist, die bei Körpertemperatur ihr Maximum erreicht. Oberhalb von 60°C wird der Inhibitor schnell zerstört, so dass nach 40 Minuten kein Hemmstoff mehr nachweisbar ist.

Die Wirksamkeit des "progressive" Inhibitor hängt weiterhin

von der Konzentration von Plasma und Plasmin ab. So konnte Norman nachweisen, dass die Reaktion zwischen dem Inhibitor und dem Plasmin so lange abläuft, bis eine der beiden Komponenten aufgebraucht ist, d.h. wird die Plasminkonzentration konstant gehalten, und die Konzentration des Plasmas gesteigert, so ist schliesslich an einem Punkt alles Plasmin gebunden, bzw. gehemmt. Wird dagegen die Plasmanmenge konstant gehalten und der Plasmingehalt fortwährend erhöht, erschöpft sich schliesslich die Inhibitor Kapazität des Plasmas, und es kann keine weitere Hemmung nachgewiesen werden. Dabei ist die maximale Reaktionsgeschwindigkeit der Konzentration des Ferment-Substrat-Komplexes proportional. Wird also die Menge einer der beiden Substanzen erhöht, steigt die Konzentration des Komplexes an, und die Reaktionsgeschwindigkeit strebt asymptotisch ihrem maximalen Wert zu (42). Die Möglichkeit, dass die Reaktion zwischen dem Plasmin und dem "progressive" Inhibitor durch ein weiteres Enzym katalysiert wird, hält der Autor für diskutabel. Im Gegensatz zur reversiblen Bindung des "immediate" Antiplasmin und dem Plasmin vermutet Norman eine feste, intermolekulare Bindung zwischen dem "progressive" Inhibitor und dem Enzym. Bei der Elektrophorese wandert das "slow" Plasma-Antiplasmin zur Fraktion der α_1 -Globuline. Nach Norman beträgt die Plasmin-Inhibitor-Kapazität des normalen menschlichen Plasmas ungefähr 800×10^{-3} Casein-Einheiten / ml und ist demnach grösser als die im Blut vorhandene Plasminmenge. Somit sind die unter physiologischen Verhältnissen vorhandenen "immediate" und "progressive" Plasma-Antiplasmine zusammen in der Lage, binnen weniger Minuten das im Körper normalerweise vorhandene Plasmin in seiner fibrinolytischen Wirksamkeit zu inaktivieren.

Der Mechanismus, dass das Plasmin dennoch aktiv und wirksam werden kann, wird durch das Vorhandensein einer Substanz erklärt, die das aktive Plasmin schützt. Nach Celandier und Guest (10) soll diese Substanz das Fibrin sein. Hat die Lysis durch das Plasmin einmal begonnen, verhindert das "immediate" Antiplasmin eine fibrinolytische Spaltung von Proteinen, zu denen das Plasmin eine geringere Affinität aufweist, das "progressive" Antiplasmin dagegen inaktiviert das Plasmin nach der vollendeten Thrombolyse.

Shamash und Rimon (64) bestätigen wie auch andere Autoren das Vorhandensein eines schnellwirkenden "immediate" Plasma-Antiplasmins und eines langsam aktiv werdenden "progressive" Plasma-Inhibitors. Dabei verwendeten sie unterschiedliche Untersuchungsmethoden. Ueber die Menge des im normalen Blut vorhandenen Hemmstoffes besteht noch keine einheitliche Meinung. Fletcher und Mitarbeiter (17) nennen eine Inhibitorenmenge, die imstande ist, 5.1 caseinolytische Einheiten Plasmin zu hemmen. Shamash und Rimon (64) ermittelten dagegen eine Inhibitoraktivität, die 30 caseinolytische Einheiten Plasmin zu hemmen vermag, das entspricht der 10 fachen Menge Plasmin, bzw. dessen Vorstufe Plasminogen, die unter physiologischen Verhältnissen im Blut nachzuweisen ist. Das dritte bisher genau untersuchte Anti-Plasmin ist das Plättchen-Antiplasmin.

2. Das Plättchen-Antiplasmin

Im Jahre 1954 stellten Johnson und Schneider (37) fest, dass die Thrombozyten eine antifibrinolytische Aktivität besitzen. Bei dem Versuch, die Frage zu klären, ob der "clottable" factor of platelets" (37) mit Fibrinogen identisch sei, oder

eine Substanz, die in der Wirkung dem Fibrinogen ähnlich ist, bemerkten sie, dass "platelet clottable material" nicht durch Fibrinolysin aufzulösen ist. Nach weiteren Versuchen erwies sich dann, dass die Thrombozyten antifibrinolytische Aktivität besitzen, wobei von den Autoren diskutiert wird, ob das Plasma-Antiplasmin möglicherweise von den Thrombozyten stamme. Die Frage, ob die Blutplättchen Träger oder Produzenten dieses Inhibitors sind, greifen Stefanini und Murphy (66) auf. In mehreren Versuchsreihen untersuchten sie plättchenreiche, plättchenarme und aus beiden gemischte Plasmen von gesunden Menschen und von Personen mit verschiedenen pathologischen Veränderungen, wie idiopathische thrombopenische Purpura, Eisenmangelanämie, lymphatische Leukämie und Thrombasthenie. Das Ergebnis war, dass eine Relation zwischen der Zahl der Thrombozyten und der antifibrinolytischen Aktivität der untersuchten Plasmen besteht, wobei bei den Patienten mit idiopathischer thrombopenischer Purpura höhere antifibrinolytische Werte zu verzeichnen sind als bei Personen mit sekundärer Thrombozytopenie, wie z.B. bei akuter Leukämie.

In weiteren Untersuchungen konnten Stefanini und Murphy aufzeigen, dass durch wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Thrombozytensuspension die inhibitorische Wirkung anstieg, während nach mehrmaligem Waschen der Plättchen der hemmende Effekt verloren ging.

Aufgrund dieser Befunde ist es den Autoren nicht möglich gewesen, die Frage zu klären, ob die Thrombozyten als Quelle des Antiplasmins angesehen werden können, oder ob sie dieses an ihrer Oberfläche adsorbieren.

Die physiologische Bedeutung dieses Antifibrinolysins der Thrombozyten kann nach Alkjaersig (2) und Jürgens (23) darin

gesehen werden, dass plättchenreiche Thromben gegenüber einer Lysis durch proteolytische Fermente, z.B. Streptokinase, bzw. Plasminogen-Aktivatoren, wie Urokinase, besonders resistent sind.

So wird offenbar, dass die Zahl der Thrombozyten, sowie deren Gehalt an antifibrinolytischem Ferment einen wichtigen Faktor bei der Blutgerinnung darstellen.

Alkjaersig (2) untersuchte die Identität von Plasma- und Plättchen-Antiplasmin. Für diese Versuche verwandte sie lyophilisierte Rinderthrombozyten, Rinderplasma und menschliches Plasma. Sie kam zu dem Ergebnis, dass der Plättchen-Inhibitor und der Plasma-Inhibitor biochemisch unterschiedliche Substanzen seien. Während die Rinderthrombozyten schnell mit dem Plasmin im Sinne einer nichtkompetitiven Hemmung reagierten, zeigte das Plasma-Antiplasmin eine mehr langsame, progressive Wirkungsweise. Einen weiteren Unterschied der beiden Inhibitoren sieht Alkjaersig in dem unterschiedlichen Verhalten gegenüber Säuren. Ausserdem besitzt der Plättcheninhibitor ein enges Wirkungsspektrum, während beim Plasmahemmstoff ein weitaus grösseres nachzuweisen ist.

Bei dem Versuch zu prüfen, ob die Thrombozyten die Plasminogenaktivierung hemmen, bestand die Aktivierungsmischung aus Rinderplasminogen, Streptokinase, etwas menschlichem Cofaktor und Thrombozyten. Es stellte sich heraus, dass die Blutplättchen aufgrund des Gehaltes an antifibrinolytischem Ferment in der Lage sind, die Plasminogenaktivierung zu hemmen, wobei jedoch nach Alkjaersig (2) der inhibitorischen Wirkung der Thrombozyten auf das freie Plasmin eine wesentlich grössere Bedeutung beigemessen werden muss. Die Frage, ob die Thrombozyten das Antiplasmin aus dem Blutplasma an ihrer Oberfläche adsorbieren, oder aber dieser Inhibitor ein

"intrinsic Factor" der Blutplättchen selbst ist, wurde offengelassen.

Auch J. Jürgens (23) kam nach neueren Untersuchungen zu der Ueberzeugung, dass Plättchen-Antiplasmin und Plasma-Antiplasmin keine identischen Substanzen sind.

Der erste Unterschied dieser beiden Inhibitoren besteht nach J. Jürgens (23) in ihrem ungleichen Verhalten bei höheren Temperaturen. Während Plasma-Antiplasmin bei einer Temperatur oberhalb 45°C zerstört wird, bleibt das Antifibrinolysin der Thrombozyten bei Erhitzen auf 70°C noch wirksam, wenn man von geringerer Aktivitätsminderung absieht.

Weiterhin beschreibt Jürgens, dass durch Erhitzen der intakten Thrombozyten auf 50°C die Inhibitorwirkung der Blutplättchen auf das freie Plasmin um das Doppelte gesteigert werden kann. Als Erklärung dieser Veränderung gibt es nach Jürgens zwei Möglichkeiten: Entweder ist das Plättchen-Antiplasmin mit dem Plättchen-Fibrinogen identisch, das bereits von Lüscher (43,44) beschrieben wurde und koaguliert bei 50°C zu Hitzefibrin, das dann eine grössere Substrataffinität zum Plasmin als zum Fibrinogen hat, oder aber die Thrombozytenmembran erfährt durch die hohen Temperaturen eine Schädigung und der Plättcheninhibitor wird frei.

Auch erwies sich, dass das Antiplasmin der intakten, hitzeaktivierten Thrombozyten eine progressive Wirkung hat und nach ca. 20 Minuten Inkubationszeit im Wasserbad bei 37°C seine grösste Aktivität aufweist.

Ein weiterer wichtiger Befund ist der Nachweis der stöchiometrischen Reaktionsweise des Thrombozyten-Inhibitors. Plasma-Antiplasmin zeigt bei ansteigenden Konzentrationen von Plasma eine lineare Funktion, während "eine optimale Plättchen-Antiplasminwirkung bei einer Dichte von 300 000 Thrombozyten pro mm³" (23) erreicht wird. Dieser Wert entspricht dem Gehalt

an Thrombozyten eines mm^3 Blut.

Nach J. Jürgens beträgt das Plättchen-Antiplasmin 1/10 des Gehaltes an Plasma-Antiplasmin des Blutes.

Er hält die Möglichkeit, dass der Plättchen-Inhibitor adsorbiertes Plasma-Antiplasmin ist, für sehr unwahrscheinlich, da zwischen dem Mangel an Plättchen-Antiplasmin und Plasma-Antiplasmin keinerlei Beziehungen festzustellen sind.

S P E Z I E L L E R T E I L

Der verminderte Plättchen-Antiplasmin-Gehalt beim von Willebrand-Jürgens-Syndrom

Bei der Untersuchung von Patienten mit von Willebrand-Jürgens Syndrom fand J. Jürgens (23) heraus, dass bei dieser Erkrankung der Plättchen-Antifibrinolytin-Gehalt vermindert oder sogar überhaupt nicht vorhanden ist. Während als Normalbereich des Plättchen-Antiplasmins $35,5 \pm 5,10$ Gamma Tyrosin / ml ermittelt wurden, hatten von 15 untersuchten Patienten mit von Willebrand-Jürgens-Syndrom 6 einen Antiplasmin-Gehalt der Thrombozyten von 0 Gamma Tyrosin /ml. Dabei zeigte die Plasma-Antiplasmin-Menge oft Werte, die im Normalbereich lagen. Als Ursache dieses Mangels am Inhibitor der Plättchen diskutiert J. Jürgens (23) drei Möglichkeiten:

1. Aufgrund einer primären Thrombozytenfunktionsstörung besteht ein "echter intracellulärer Mangel an Hemmstoff".
2. Trotz normalen Gehaltes an Plättchen-Antiplasmin besteht ein Mangel desselben, der durch eine Thrombozytenanomalie oder durch den Mangel eines plasmatischen Faktors, der die Freilassung des Inhibitors ermöglicht, bedingt ist.
3. Der Inhibitor wird normalerweise an die Thrombozytenoberfläche adsorbiert. Obgleich genügend Plasma-Antiplasmin vorhanden ist, sind die Thrombozyten beim von Willebrand-Jürgens Syndrom nicht in der Lage, diesen Inhibitor auf ihre Membran zu adsorbieren.

Weiterhin hält es J. Jürgens nicht für unwahrscheinlich, dass es sich bei dem Plättchen-Antiplasmin um das Plättchen-Fibrinogen handelt, dass nach Lüscher (43,44) im Thrombozyten und auf der Plättchenmembran zu finden ist. Der Unterschied zwischen Plasma-Fibrinogen und Plättchen-Fibrinogen liegt

nach J. Jürgens in der verschiedenen Polymerisation der beiden Inhibitoren. Ueber die Aufnahme des Plättchen-Fibrinogens aus dem Plasma schreibt Jürgens: "Inwieweit die Beladung der Plättchen mit Fibrinogen ausschliesslich eine selbständige aktive Tätigkeit der Plättchen darstellt, die mit einer selektiven Speicherung verglichen werden kann, oder ob hierbei ein extracellulärer thrombozytärer, plasmatischer Faktor ausserdem noch eine Rolle spielt, ist noch völlig unklar. Von Interesse ist, dass auch bei Patienten mit totaler Afibrinogenämie die Thrombozyten dennoch Plättchenfibrinogen enthalten. Die Fibrinogenspeicherung der Plättchen kann also möglicherweise sogar unabhängig von Plasma-Fibrinogen erfolgen". Wie verschiedene Untersuchungen bei Patienten mit von Willebrand-Jürgens-Syndrom ergeben haben, ist der Gehalt an Plättchen-Antiplasmin ebendenselben Schwankungen unterworfen wie die verlängerte Blutungszeit. Bei der Untersuchung eines Patienten kann man eine sehr lange Blutungszeit kombiniert mit einem stark verringerten Gehalt an Plättchen-Antifibrinolysin finden, während eine später erfolgende Nachuntersuchung fast völlig normale Werte ergeben kann.

Die Bedeutung dieser niedrigen Plättchen-Antiplasmin-Werte für die Hämostase ist darin zu sehen, dass dieser Inhibitor einer Wiederauflösung des Gerinnsels entgegenwirkt. Ist dieser Hemmstoff jedoch in verminderter Menge vorhanden, wird er im Falle einer Blutstillung nach kurzer Zeit aufgebraucht sein, und der fibrinolytischen Aktivität des Blutes steht eine verminderte Resistenz des neugebildeten Thrombus gegenüber.

Das Ergebnis unserer Untersuchungen liegt darin, dass es uns

gelingen ist, mit dem Hämostatikum "Vascular Factor" den verminderten Gehalt an Plättchen-Antiplasmin bei Patienten mit von Willebrand-Jürgens-Syndrom wesentlich zu erhöhen und die verlängerte Blutungszeit zu normalisieren.

II. Das Hämostatikum "Vascular Factor"

Dieses Präparat wird aus frischen Rindergefässen und aus Plasmaglobulin gewonnen und stellt Eiweissabbauprodukte in einer definierten Peptidmischung dar. Es kann den Patienten intravenös oder oral verabreicht werden und zeichnet sich durch sehr gute Verträglichkeit aus.

Wird das Hämostatikum injiziert, so tritt die Wirkung nach ca. 60-70 Minuten ein, nach oraler Applikation werden dagegen 2 - 2 1/2 Stunden benötigt, um den vollen Effekt nachweisen zu können (18). Von grosser Wichtigkeit für die Applikation des Medikamentes ist die genaue Dosierung.

Wie eine Unterdosierung ist auch eine Ueberdosierung völlig wirkungslos, so dass die zu verordnende Menge sorgfältig bestimmt werden muss. Die Wirkungsdauer des Medikamentes beträgt 6 - 8 Stunden.

In der II. Medizinischen Universitätsklinik Frankfurt/Main wird dieses Präparat seit vielen Jahren mit sehr gutem Erfolg bei allen hämorrhagischen Diathesen verordnet. Dazu gehören Hämophilie A, Hämophilie B, chronische Myelosen, Thrombopenie, Morbus Osler, Osteomyelosklerose, Morbus Werlhof, Lymphogranulomatose Dysthrombozytosen, gemischte Koagulopathien und Thrombopathien. Aber auch bei postoperativen Nachblutungen, internen Blutungen ohne hämorrhagische Diathese und bei ophthalmologischen Blutungen werden gute Erfolge erzielt (18).

Dieser hämostatische Effekt konnte bisher nicht ausreichend erklärt werden. Nach Definition der Hersteller sollte dieser

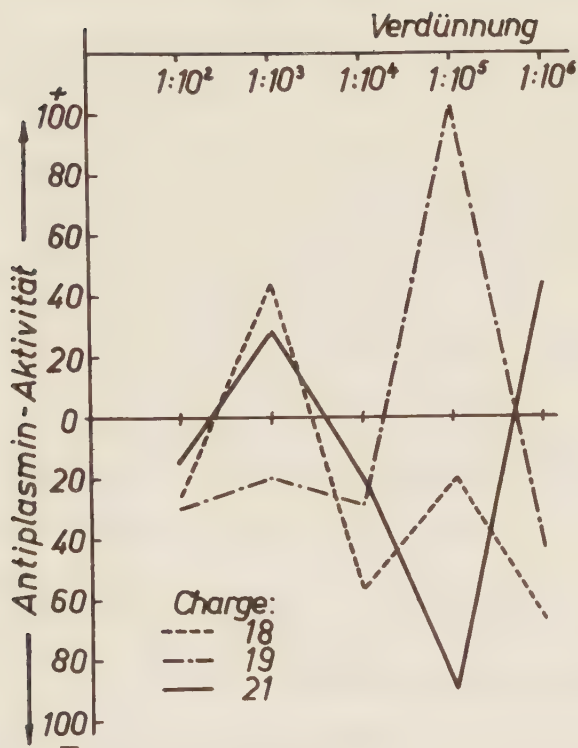


Abb. 2 Bestimmung der Antiplasmin-Aktivität verschiedener Chargen "VF"

"Vascular Factor" lediglich an den Gefäßen angreifen und zwar insofern, als dass er zu einer Gefäßabdichtung infolge Herabsetzung der Kapillarp permeabilität und zu einer starken Erhöhung der reaktiven Vasokonstriktion am Ort des Gefäßtraumas führt. Es war nicht möglich gewesen, einen Einfluss auf das Gerinnungssystem oder die Thrombozyten-Faktoren nachzuweisen.

Bei der Untersuchung von "Vascular Factor" auf den Gehalt an Antiplasmin stellten wir fest, dass das Medikament diesen Inhibitor der Fibrinolyse enthält. Aus der Abbildung 2 geht hervor, dass dieser Antiplasmingehalt nur bei bestimmten Verdünnungsgraden nachweisbar ist. Ebenfalls bei der therapeutischen Anwendung des Präparates zeigte sich die stöchiometrische Reaktionskinetik. Lediglich eine genaue, für jeden Patienten individuell verschiedene Dosis, ist wirksam. Eine Ueber- wie auch eine Unterdosierung sind ohne Erfolg.

Zu Beginn der Behandlung eines Patienten mit VF muss zunächst die genaue Dosis ermittelt werden. Nicht selten treten nach der ersten Injektion eine Verlängerung der Blutungszeit und ein Abfall des Antiplasminwertes auf. Das ist in einer Unter- oder Ueberdosierung begründet.

Erfolgte eine Unterdosierung, dann sind weitere Injektionen erforderlich, bis der notwendige Blutspiegel erreicht ist. Dieses Phänomen ist aus Abbildung 5 zu ersehen.

Wurde dagegen das Präparat überdosiert, so tritt zunächst ebenfalls eine Verschlechterung der Blutungszeit und des Antiplasminwertes ein. In solch einem Falle darf keine weitere Injektion erfolgen, sondern es muss abgewartet werden, bis ein Teil des Medikamentes im Körper abgebaut und ebenfalls der richtige Blutspiegel erreicht ist (Abb. 6,8,11).

Aus Abbildung 9 geht hervor, dass nach Injektion von VF trotz Verkürzung der Blutungszeit noch kein Anstieg, sondern ein Abfall des Antiplasminwertes erfolgt ist. Erst eine weitere Injektion konnte eine nochmalige Verkürzung der Blutungszeit und einen Anstieg des Antiplasminwertes aufzeigen.

Wie aus Abb. 10 zu ersehen ist, kann der Abbau des Medikamentes langsam erfolgen. Einen Tag, nachdem eine Verkürzung der Blutungszeit und ein Anstieg des Plättchen-Antiplasmins erfolgt war, ist nur eine geringe Verlängerung der Blutungszeit und ein minimaler Abfall des Inhibitors nachzuweisen, obgleich kein Medikament nochmals injiziert wurde.

Dieses Phänomen ist jedoch individuellen Schwankungen unterworfen.

Vor der Schilderung der untersuchten Patienten und den Ergebnissen der Therapie wollen wir die verwendeten Methoden und Reagentien aufzeigen.

III. Methoden und Reagentien

Für die Differentialdiagnose des von Willebrand-Jürgens-Syndroms wurden unter anderem folgende Untersuchungsmethoden verwendet:

1. Bestimmung der Blutungszeit nach Duke (34a)

Mit Hilfe des Schnepfers wird ein 3mm tiefer Einstich am Ohrfläppchen gesetzt und die Stoppuhr in Gang gesetzt; alle 30 Sekunden wird der austretende Blutstropfen mit einem Filterpapier aufgenommen bis die Blutung steht.

2. Volumetrische Messung der Retraktion nach J. Jürgens

(Zitat nach J. Jürgens und F. K. Beller (34c)

In ein Takata-Röhrchen wird mit einer Pipette 1 ml Nativblut einpipettiert und ein V₂ A-Stahldraht von 2mm Durchmesser

gestellt, der an seinem unteren Ende korkenzieherartig aufgewunden ist. Nach erfolgter Retraktion wird das Koagulum, das sich fest an die Korkenzieherwindungen des Stahldrahtes gelegt hat, herausgezogen und das zurückbleibende Serum nach 1 Stunde bei Brutschranktemperatur gemessen. Normalerweise beträgt die ausgepresste Serummenge bei dieser Technik nach 1 Stunde 40 - 50 Vol.%.

3. Globale Plättchenfunktionsprüfung mit der Rotationsthrombelastographie nach J. Jürgens (34b)

1ml plättchenschonend gewonnenes Citratblut wird in ein unsilikonisiertes Glaskölbchen überführt und 8 Minuten bei einer Rotationsgeschwindigkeit von 30 - 60 U/Min. rotiert. Anschliessend wird die Thrombelastographie mit der Recalcifizierungstechnik durchgeführt. Als Vergleich wird ein weiteres Thrombelastogramm aus frischem, unbehandeltem Citratblut geschrieben.

Für die Thrombelastographie verwendet man folgenden Ansatz: 0,3ml Citrat-Blut füllt man in die vorgewärmte Küvette des Thrombelastographen mit einer silikonisierten Blutzuckerpipette und fügt 0,05ml einer 6/40 Mol CaCl_2 -Lösung hinzu. Von diesem Augenblick an misst man die Zeit mit Hilfe einer Stoppuhr. Anschliessend überschichtet man mit Paraffin und schaltet das Gerät ein.

Von grosser Bedeutung für das Ergebnis sind die Glassorte des Rotationskölbchens, die Rotationsdauer, Rotationsgeschwindigkeit und die Art der Blutentnahme. Unter normalen Bedingungen erhält man nach der Rotation eine Zunahme der Thrombusfestigkeit von 40 - 50% bei gesunden Menschen, die sich in einer Zunahme des mE-Wertes und einer Verkürzung des r-Wertes äussert.

Diese Veränderung wird durch verschiedene Faktoren bedingt. Bei der Rotation bleibt ein Teil der Thrombozyten an der

Wand des Kölbchens haften, ein anderer Teil agglomeriert und wird desintegriert. Dabei werden Thrombozytenfaktoren, wie z. B. der Plättchenfaktor 3, frei und bedingen eine Zunahme der Thrombusfestigkeit.

Mit dieser Methode werden hauptsächlich die Plättchenadhäsivität, die Plättchenresistenz und die Thrombozyten-Intrinsic-Faktoren bestimmt. Da bei vermehrter Plättchenadhäsivität viele Thrombozyten an der Glaswand des Kölbchens hängen bleiben, befinden sich weniger Thrombozyten im Rotationsblut und die Thrombusfestigkeit ist somit im Rotationsthrombelastogramm herabgesetzt. Die Thrombozytenresistenz ist insofern von Bedeutung, als bei Erhöhung derselben weniger Thromboglutin abgegeben wird, infolge der geringeren Verletzung der Plättchen während der Rotation. Somit wird auch in diesem Falle die Thrombusfestigkeit nach der Rotation nicht erhöht sein.

Bei den von uns untersuchten Patienten mit Thrombopathie von Willebrand-Jürgens konnten wir häufig eine Abnahme der Thrombusfestigkeit beobachten. Das entspricht einer Abnahme des mE-Wertes. "Dieses Phänomen kann nur so gewertet werden, dass bei einer meist noch wechselnd erhaltenen Adhäsivität der Plättchen ein Teil der Thrombozyten am Glase haften bleibt, jedoch nicht in der Lage ist, nach Rotation vermehrt Intrinsic-Faktoren abzugeben. Im Gegenteil bewirkt das Haften einiger Thrombozyten am Glas eine Verminderung der Thrombozytenzahl im Citratblut, wodurch es zu einer Abnahme der Thrombusfestigkeit nach Rotation kommt" (24).

4. Bestimmung der Plättchenadhäsivität nach J. Jürgens (Zitat nach J. Jürgens (33))

Plättchenschonende Blutentnahme unter Verwendung von Rekord-spritzen, die mit Vaseline alba innen ausgestrichen sind. Ein Teil einer 3,8%igen Trinatriumzitratlösung wird mit 9

Teilen Blut aufgezogen und 5 Minuten bei 1500 U/min. zentrifugiert.

Das plättchenreiche Plasma muss innerhalb 30 Minuten verwendet werden.

Plättchenreiches Plasma wird durch standardisierte Mikrospezialfilter filtriert und die Plättchenzahl vor und nach der Filterpassage gezählt. Man verwendet hierfür Mikro-Glasfritten, GröÙe Nr. 1, mit PorengröÙe 400, Hersteller Fa. Schott und Gen., Mainz. Die Filter werden mit 1,8g Glassand PartikelgröÙe 13/100 gefüllt (Fa. Fischer, Frankfurt). Der verwendete Glassand muss vorher 20 mal mit Leitungswasser aufgeschwemmt und gewaschen werden, anschliessend 3 maliges Waschen in Aqua dest. und Trocknen bis zur völligen Wasserfreiheit bei 220°C im Trockenofen. Durch 3-5 maliges vorsichtiges Klopfen der gefüllten Filter erreicht man eine gleichmässige Sinterung des Glassandes.

Die Filter werden anschliessend in silikonierete Zentrifugengläser eingeführt und 1,5 ml plättchenreiches Plasma, das zuvor für 45 Minuten im Wasserbad von 37°C inkubiert worden war, auf den Glassand getropft. Man wartet die Filterpassage ab, die etwa 30 sec. dauert, nimmt danach die Filter aus den Zentrifugengläsern wieder heraus, dann schüttelt man das Plasmafiltrat einmal kurz auf, ehe dies für die Plättchenzählung verwendet wird. Nach jeder Passage wird der Glassand verworfen, die Filter in Leitungswasser gründlich gespült, danach erst in Hämosol und anschliessend in Bichromat-Schwefelsäure eingelegt. Die danach in Leitungswasser gut nachgespülten und im Trockenschrank getrockneten Filter können beliebig oft verwendet werden.

Bei der Verwendung dieser Methode beträgt die normale Plättchenadhäsivität 34-45%, während sie bei den untersuchten Patienten mit von Willebrand-Märgens-Syndrom herabgesetzt ist,

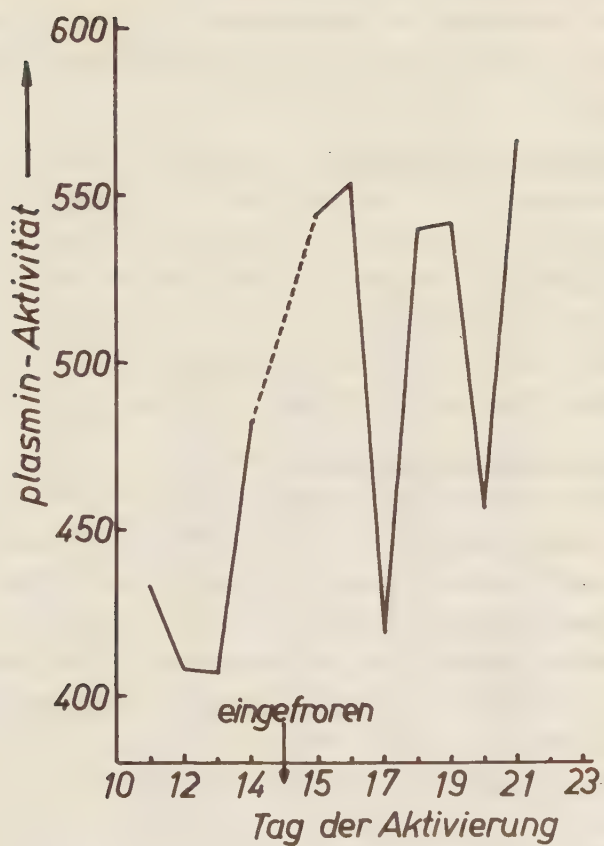


Abb. 3 Spontanaktivierung einer Humanplasminogenlösung zu Plasmin

ja, sogar Null betragen kann, wenn die Plättchenzahl vor und nach der Filtration unverändert ist.

Für die Herstellung der gewaschenen Thrombozyten zur Bestimmung des Plättchen-Antiplasmins wurde als Antikoagulans eine Komplexon III - Lösung verwendet.

Herstellung der Komplexon III - Lösung (24d)

1,0g Komplexon III - Salz wird in 10 ml Aqua dest. gelöst und so lange mit n/5 Natronlauge versetzt, bis ein pH von 7,4 bis 7,6 erreicht ist. Für die Kontrolle der Wasserstoffionenkonzentration verwenden wir einen pH-Automaten. Anschliessend wird mit einem Teil Michaelispuffer (pH = 7,6) und zwei Teilen physiologischer Kochsalzlösung auf 100 ml aufgefüllt.

Herstellung der Plasminlösung (23)

5g Cohn's Fraction III⁺) werden in einem Gemisch bestehend aus 50% Michaelispuffer (pH = 7,6) und 50% Glycerol gelöst. Die Spontanaktivierung erfolgt, während man das Gemisch 7-11 Tage bei Zimmertemperatur stehen lässt. Jeden Tag wird eine Plasminbestimmung angesetzt und die Aktivität des Präparates bestimmt (Abb. 3). Erfolgt kein Anstieg der Plasminaktivität mehr, dann ist das Präparat fertig. In einer Versuchsreihe stellten wir fest, dass das Plasmin bei einer Konzentration von 25% am wirksamsten ist. Dies entspricht einer Extinktion des Nullwertes von 250. Aus diesem Grunde stellten wir die Plasminlösung auf diesen Wert ein. (Abb. 4)

Herstellung der Caseinlösung

8g Caseinum nach Hammarsten werden in einer Mischung aus 100ml Puffer und 100ml physiologischer Kochsalzlösung gelöst und eine Stunde im Wasserbad gekocht. Nach dem Abkühlen wird der pH auf

+) ein Geschenk der Ortho-Research-Foundation in Raritan, New Jersey

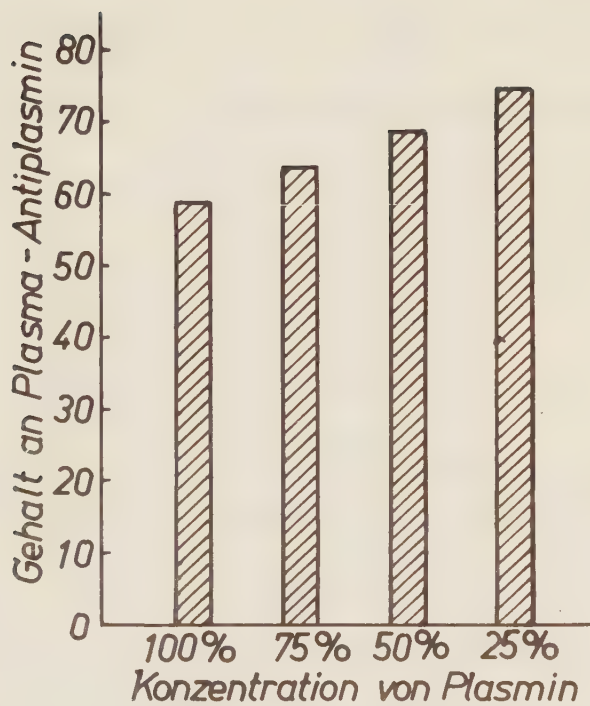


Abb. 4 Verschiedene Plasminkonzentrationen bei einer Plasma-Antiplasminbestimmung

7,6 eingestellt. Ist noch keine vollständige Lösung eingetreten, muss so lange weitergekocht werden, bis die Lösung erreicht ist. Der pH wird anschliessend wiederum auf einen Wert von 7,6 eingestellt und die ursprüngliche Menge durch Auffüllen von Puffer erreicht.

Bestimmung des Plättchen-Antiplasmins (23)

Für die plättchenschonende Blutentnahme verwenden wir mit Vaseline gefettete Rekordspritzen und von innen polierte, etwas grössere V₂A-Kanülen. Das Venenblut wird mit einer Komplexon III - Lösung im Verhältnis 9:1 versetzt und somit ungerinnbar gemacht. Dann überführen wir das Gemisch in paraffinierte Zentrifugengläser und zentrifugieren zunächst 15 Min. bei 1500 U/min. Das überstehende, plättchenreiche Plasma pipettieren wir nachfolgend in ein anderes paraffiniertes Röhrchen, füllen mit einer Mischung aus einem Teil Sequestrener Natriumlösung und neun Teilen physiologischer Kochsalzlösung auf und zentrifugieren 15 Minuten bei 2000 U/min. Dann wird die überstehende Flüssigkeit verworfen und der Bodensatz aufgeschwemmt. Das Röhrchen wird wiederum mit obiger Mischung aufgefüllt und der Waschvorgang noch zweimal wiederholt, wobei vor dem letzten Waschvorgang die Plättchensuspension in ein silikonisiertes Zentrifugenglas überführt wird.

Nach dem letzten Zentrifugieren versetzt man den Bodensatz mit 0,3ml Michaelispuffer (pH = 7,6), zählt die Thrombozyten im Zweiphasenkontrastmikroskop und stellt sie mit Puffer genau auf eine Zahl von 300 000 Thrombozyten /mm³ ein. Dann wird die Suspension für 30 Minuten auf 55°C im Wasserbad erhitzt.

In einem silikonisierten Wa-Röhrchen stellt man folgenden Ansatz her:

0,2 ml dieser Thrombozytensuspension

0,4 ml Michaelispuffer (pH = 7,6)

0,2 ml Plasmin-Puffer-Lösung

Unter Schütteln wird dieser Ansatz im Wasserbad vorinkubiert (2 Minuten lang) und anschliessend drei Minuten bei 2500U/min abzentrifugiert.

Aus dem Ueberstand setzt man zwei Ansätze an:

Leerwert: 0,8 ml einer 10% Trichloressigsäure

0,3 ml Ueberstand

0,2 ml der 4%igen Caseinlösung

Messwert: 0,3 ml Ueberstand

0,2 ml der 4%igen Caseinlösung

Der Messwert wird 1 Stunde im Brutschrank bei 37°C inkubiert und darauffolgend ebenfalls mit Trichloressigsäure enteiwisst. Nach der Filtration mit Mikro-Blauband-Filtern bestimmt man das entstandene Tyrosin durch UV-Absorption bei einer Wellenlänge von 280 nm im Spektralphotometer.

Für den 0-Wert stellt man folgenden Ansatz her:

0,6 ml Puffer

0,2 ml Plasmin-Pufferlösung

Auch dieser Ansatz wird zwei Minuten bei 37°C im Wasserbad vorinkubiert. In ein anderes silikonisiertes Röhrchen werden 0,3ml dieser Mischung, sowie 0,2ml Caseinlösung pipettiert und 1 Stunde bei 37°C im Brutschrank bebrütet.

Nach dem Enteiwissen mit Trichloressigsäure, dem Filtrieren und dem anschliessenden Messen des Tyrosins, kann man aus der Differenz zwischen Hauptansatz und Nullwert die Antiplasmin-Hemmwirkung der Thrombozyten bestimmen.

IV. Beschreibung der Patienten und Ergebnisse der Therapie mit "Vascular Factor"

Wir untersuchten insgesamt 8 Patienten mit zum Teil stark ausgeprägter Blutungsneigung. Davon hatten 5 Patienten eine nachgewiesene Thrombopathie von Willebrand-Jürgens, 2 Fälle

wiesen vornehmlich die Merkmale der Thrombopathie vom Typ Glanzmann-Naegeli auf, und ein Patient litt an einer symptomatischen Thrombopathie infolge einer Osteomyelosklerose. Allen Patienten gemeinsam waren die Symptome der hämorrhagischen Diathese, sowie herabgesetzte Plättchen-Antiplasminwerte. Bei den ersten drei Patienten handelt es sich um Brüder, die alle an heftiger Blutungsneigung leiden, und bei denen eine Thrombopathie von Willebrand-Jürgens diagnostiziert wurde. Aus der Familienanamnese geht hervor, dass der Vater der Mutter schwerstes Nasenbluten gehabt hatte.

Fall I

Zur Anamnese: Pfl., B. ist der Älteste der drei Geschwister.

Im Anschluss an eine Adenotomie litt er noch nach 14 Tagen unter schweren Nachblutungen; bei Zahnextraktionen hatte er ohne Behandlung ebenfalls Blutverluste und an den Extremitäten waren häufig Hämatome nachweisbar.

Wie bei den meisten unserer Patienten mit von Willebrand-Jürgens-Syndrom ist die Blutungszeit bei ihm ausserordentlichen Schwankungen unterworfen und damit gleichzeitig auch der Gehalt an Plättchen-Antiplasmin.

Befunde:

Blutungszeit: 2,0 Minuten

Gerinnungs-

Heparintoleranztest: 2,20 Minuten

analyse:

Prothrombinpotential (Quick) 100%

Prothrombin isoliert : 28%

Faktor V : 75%

Faktor VII: 72%

Prothrombinverbrauch : 3,3%

Retraktion : 36%

Plättchen-Antiplasmin : 3,3 gamma Tyrosin/ml

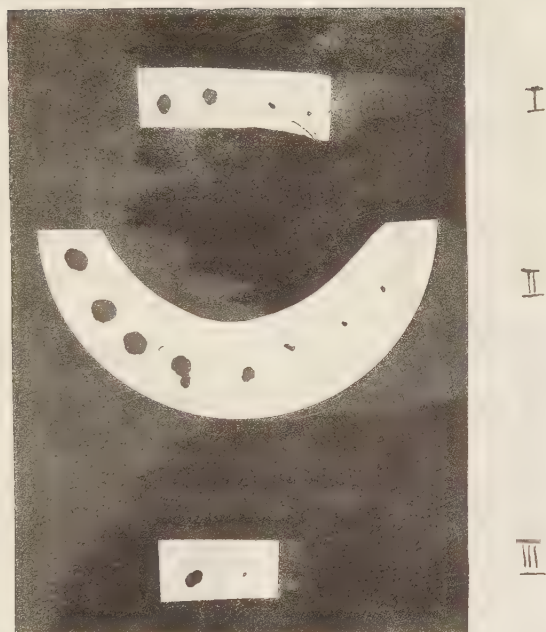
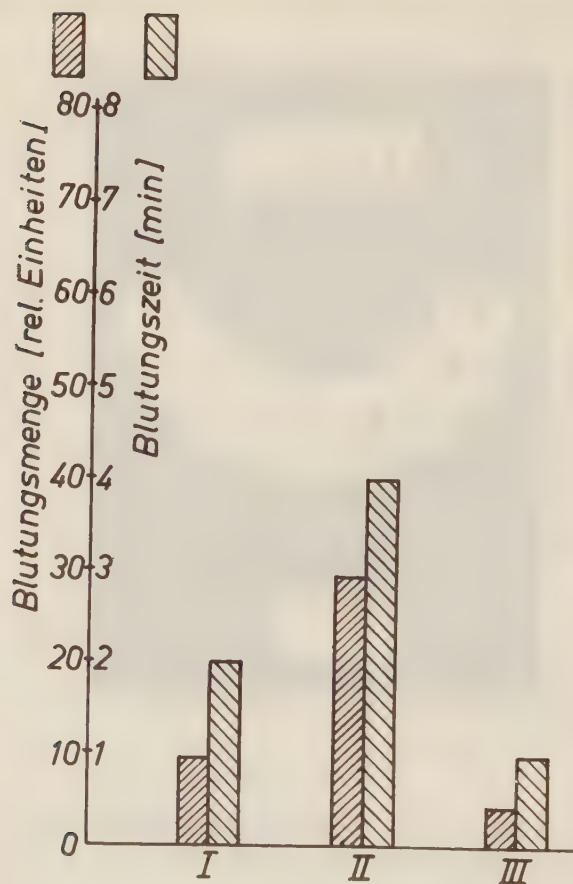


Abb. 5 P. B. Bestimmung des Plättchen-Antiplasmins und der Blutungszeit nach Duke (34a)

- I Die Blutungszeit vor Therapie mit "VF": 2 Min
Plättchen-Antiplasmin: 3,3 Gamma Tyrosin/ml
- II Die Blutungszeit 1 Tag nach Injektion
 $\frac{1}{2}$ Ampulle "VF": 4 Min.
Plättchen-Antiplasmin: 14,67 Gamma Tyrosin/ml
- III Die Blutungszeit am darauffolgenden Tag $1\frac{1}{2}$ Stunden
nach Injektion einer weiteren $\frac{1}{2}$ Ampulle "VF": 1 Min.
Plättchen-Antiplasmin: 21,33 Gamma Tyrosin/ml



zu Abb. 5 Graphische Darstellung der Blutungszeit und der Blutmenge. Das Mass der Blutmenge ist der Mittelwert der Durchmesser der abgebildeten Blutstropfen.

Aufgrund dieser Befunde konnten wir bei dem Patienten eine Insuffizienz des Plättchensystems diagnostizieren, so wie sie bei der Thrombopathie von Willebrand-Jürgens zu finden ist.

Therapie: Nach einer langdauernden Substitutionstherapie mit "Vascular Factor" wurden keine grösseren Blutungen mehr beobachtet und Zahnextraktionen verliefen ohne bedeutende Blutverluste.

Die Blutungszeit betrug 1 Minute und die Untersuchung der Plättchenfunktion ergab normale Werte:
Thrombelastogramm: $r=15$ Min., $K_1=4,0$ Min., $K_2=28'$
 $mE=138$ Min.

Rotationsthromb... der r -Wert war leicht verlängert
elastogramm: der mE -Wert dagegen war wegen Gerinnselabbruchs nicht sicher beurteilbar, er schien aber mässig verschmälert gewesen zu sein.
Das Plättchen-Antiplasmin konnte auf einen Wert von 21,33 Gamma Tyrosin/ml erhöht werden.

Fall II P.T.

Zur Anamnese: Dieser Junge hatte fast immer Hämatome an den Extremitäten, ausserdem litt er an Epistaxis; nach einer Tonsillektomie kam es zu schwersten kaum stillbaren Nachblutungen, die zwei Transfusionen grosser Konserven AH-Plasmas erforderlich machten.

Befunde: Blutungszeit: $3\frac{1}{2}$ Minuten

Gerinnungs-Heparintoleranztest: 3,15 Minuten

analyse: Quick-Wert: 100%

Prothrombin isoliert: 70%

Faktor V: 82%

Faktor VII: 100%

Prothrombinverbrauch: 12%

Retraktion: 16%

Thrombelastogramm: $r=15,5$ Min., $K_1=5,0$, $K_2=37,5$ Min.
 $mE=122$ Min.

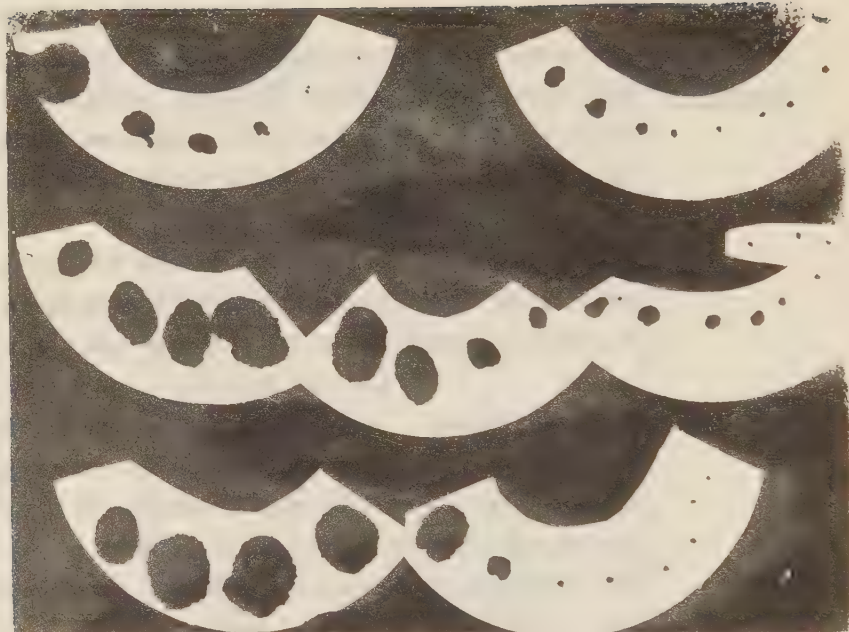
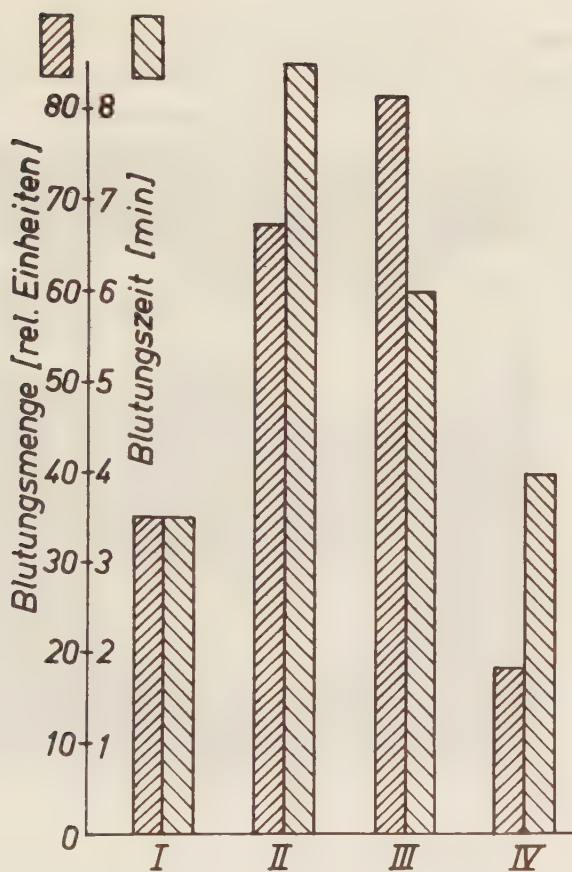


Abb. 6 P. T. Bestimmung des Plättchen-Antiplasmins und der Blutungszeit nach Duke (34a)

- I Die Blutungszeit vor Therapie mit "VF": 9 Min.
Plättchen-Antiplasmin: 0 Gamma Tyrosin/ml
- II Die Blutungszeit 1½ Tag nach Injektion
1 Ampulle "VF": 8½ Min.
- III Die Blutungszeit 3 Stunden nach Injektion
1 Ampulle "VF": 6 Min.
- IV Die Blutungszeit 4 Stunden nach Injektion
1 Ampulle "VF": 4 Min.
Plättchen-Antiplasmin: 20,67 Gamma Tyrosin/ml



zu Abb. 6 Graphische Darstellung der Blutungszeit und der Blutungsmenge. Das Mass der Blutungsmenge ist der Mittelwert der Durchmesser der abgebildeten Blutstropfen.

Neben einem pathologischen Prothrombinverbrauch fand sich eine extrem verminderte Retraktion des Gerinnsels und ein nur leicht verlängerter Heparintoleranztest.

Die Bestimmung des Plättchen-Antiplasmins ergab ein völliges Fehlen dieses Inhibitors der Thrombozyten, d.h. es fand sich ein Wert von 0 Gamma Tyrosin/ml.

Therapie: Während einiger Monate wurde der Junge mit "Vascular Factor" behandelt, und es gelang auch hier, den Antiplasmingehalt zu erhöhen. Wir untersuchten diesen 4 Stunden nach Injektion einer Ampulle "VF" und konnten feststellen, dass der Plättchen-Inhibitor auf einen Wert von 20,67 Gamma Tyrosin/ml angestiegen war.

Fall III P. M.

Zur Anamnese: Blutungen nach Zahnextraktionen, Hämatome, Epistaxis und ebenfalls nach Tonsillektomie schwerste Nachblutungen, die nur mit Transfusionen von AH-Plasma zum Stehen gebracht werden konnten.

Befunde: Blutungszeit: 5 Minuten

Gerinnungs-Heparintoleranztest: 2,23 Minuten

analyse: Prothrombinpotential: 120%

Prothrombin isoliert: 58%

Faktor V: 100%

Faktor VII: 112%

Prothrombinverbrauch: 4,2%

Retraktion: 34,5%

Thrombelastogramm: $r = 14,0$ Min., $K_1 = 4,5$ Min.

$K_2 = 25,0$ " $mE = 100$ Min.

Plättchen-Antiplasmin: 3,0 Gamma Tyrosin/ml

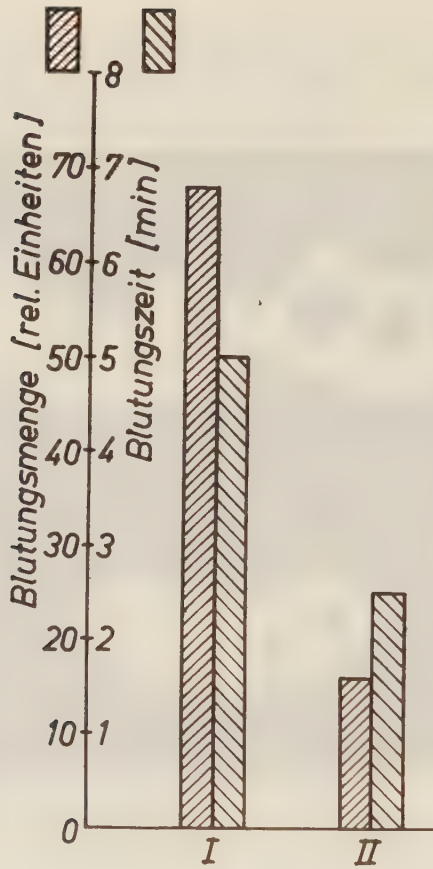
Die Untersuchungen deuten ebenfalls auf eine Insuffizienz



Abb. 7 Pi. M. Bestimmung des Plättchen-Antiplasmins und der Blutungszeit nach Duke (34a)

I Die Blutungszeit vor Therapie mit "VF": 5 Min.
Plättchen-Antiplasmin: 3,0 Gamma Tyrosin/ml

II Die Blutungszeit 1 Tag nach Injektion
 $\frac{1}{2}$ Ampulle "VF": $2\frac{1}{2}$ Min.
Plättchen-Antiplasmin: 17,33 Gamma Tyrosin/ml



zu Abb. 7 Graphische Darstellung der Blutungszeit und der Blutungsmenge. Das Mass der Blutungsmenge ist der Mittelwert der Durchmesser der abgebildeten Blutstropfen.

der Thrombozyten, wie auch die Bestimmung des Plättchen-Antiplasmins einen pathologischen Wert ergab.

Therapie: Nach Injektion $\frac{1}{2}$ Ampulle "Vascular Factor" untersuchten wir 24 Stunden später den Gehalt der Blutplättchen an Antiplasmin und bestimmten die Blutungszeit. Die Werte waren folgende:
Blutungszeit: $2\frac{1}{2}$ Minuten
Plättchen-Antiplasmin: 17,33 Gamma Tyrosin/ml
Während der Behandlungsdauer werden keine Rezidive beobachtet, und auch bei diesem Jungen verliefen die Zahnextraktionen in dieser Zeit ohne Zwischenfälle.

Fall IV

Zur Anamnese: W., M.: Seit vielen Jahren leidet die Patientin unter Menorrhagien; nach einer Abrasio kam es zu schweren Nachblutungen, die Transfusionen erforderlich machten. An den Extremitäten waren des öfteren Hämatome auffindbar.

Befunde: Blutungszeit: 3,30 Minuten
Wie oben bereits erwähnt, ist auch bei diesem Fall die Blutungszeit grossen Schwankungen unterworfen. Starke Verlängerung derselben wechselt mit fast normalen Werten ab.

Gerinnungs-Heparintoleranztest: 2,48 Minuten

analyse: Prothrombinpotential: 100%

Prothrombin isoliert: 77%

Faktor V: 76%

Faktor VII: 70%

Faktor VIII: 67%

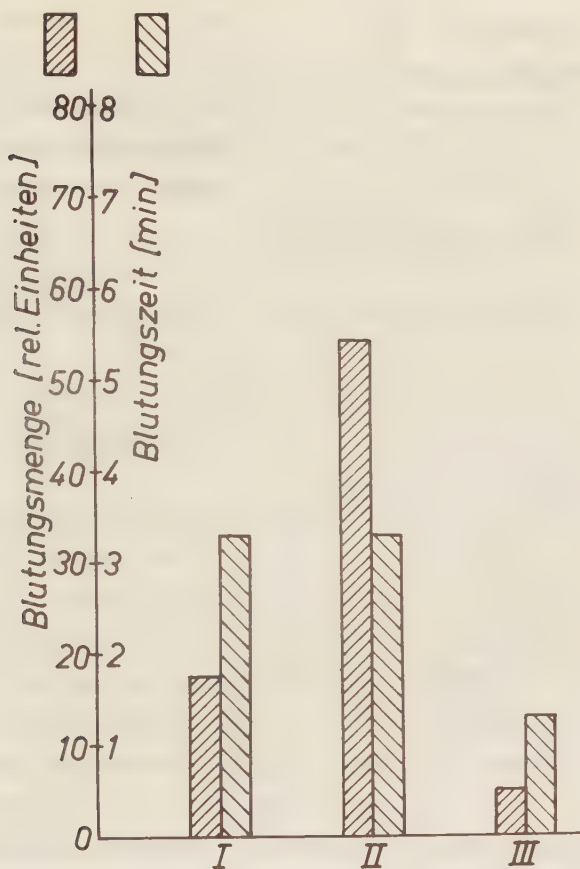
Faktor IX: 23,5%

Prothrombinverbrauch: Serumprotein: 11%



Abb. 8 W. M. Bestimmung des Plättchen-Antiplasmins und der Blutungszeit nach Duke (34a)

- I Die Blutungszeit vor Therapie mit "VF": $3\frac{1}{2}$ Min.
Plättchen-Antiplasmin: 0 Gamma Tyrosin/ml
- II Die Blutungszeit 1 Tag nach Injektion 1 Ampulle
"VF": $3\frac{1}{2}$ Min.
- III Die Blutungszeit 2 Tage nach Injektion
1 Ampulle "VF": $1\frac{1}{2}$ Min.
Plättchen-Antiplasmin: 14,67 Gamma Tyrosin/ml



zu Abb. 8 Graphische Darstellung der Blutungszeit und der Blutungsmenge. Das Mass der Blutungsmenge ist der Mittelwert der Durchmesser der abgebildeten Blutstropfen.

Retraktion: 41%

Plättchenfunktionen:

Plättchenadhäsivität: vor Rotation 192
nach 8' Rot. 98
Schwund 49%

Plättchenagglutination: nach 8' positiv
nach 20' positiv

Rotationsthrombelastographie: = nach Rotation unverändert

mE= nach Rotation deutlich verschmälert

Therapie:

Die Patientin befindet sich seit einigen Jahren in Behandlung der II. Medizinischen Klinik. Infolge der Therapie mit "Vascular Factor" verlaufen die Menses normal. Rezidive sind selten geworden. Zwei Tage nach Substitution einer Ampulle "Vascular Factor" betrug die Blutungszeit nunmehr $1\frac{1}{2}$ Minute und der Antiplasmingehalt der Thrombozyten war von 0 Gamma Tyrosin/ml auf 14,67 Gamma Tyrosin / ml angestiegen.

Fall V

Zur Anamnese: G., L.: In der Kindheit trat sehr häufig Epistaxis auf. Blutungsneigung veranlasste die Patientin zum Eintritt in die Klinik; zu diesem Zeitpunkt waren der Körper und besonders die Extremitäten mit Hämatomen übersät.

Befunde: Blutungszeit: $4\frac{1}{2}$ Minuten

Gerinnungs-Heparintoleranztest: 2,22 Minuten

analyse: Prothrombinpotential: 100%

Prothrombin isoliert: 100%

Faktor V: 54%

Faktor VII: 79%

Faktor VIII: 100%

Faktor IX: 78%

Retraktion: 38%

Prothrombinverbrauch: Serumphrothrombin: 7,6%

Thrombestaogramm: $r = 13'$ $K_1 = 4'$ $K_2 = 39,5'$
 $mE = 110'$

Plättchenfunktionen:

Plättchenadhäsivität: vor Rotation 196

nach Rotation 154

Schwund 21,5%

Plättchenagglutination: nach 8 Minuten: positiv

nach 20 Min. : positiv

Rotationsthrombelastogramm: $r =$ ausreichend ver-
kürzt

$mE =$ genügend verbreitert

korrigierter Retraktionswert: 77,5%

Plättchen-Antiplasmin : 5,5 Gamma Tyrosin/ml

Die Untersuchungsergebnisse zeigen demnach einen vermehrten Prothrombinverbrauch, einen Mangel an Faktoren V und VII, eine leichte Verminderung der Retraktion, ein deutliches Defizit des korrigierten Retraktionswertes, eine verminderte Plättchenadhäsivität und einen herabgesetzten Gehalt an Plättchen-Antiplasmin. Aufgrund dieser Befunde konnte eine echte hereditäre Thrombopathie vom Typ von Willebrand-Jürgens diagnostiziert werden.

Therapie: Während einiger Wochen wurde diese Patientin mit "Vascular Factor" behandelt. Die Blutungsneigung konnte günstig beeinflusst werden, die Hämatome waren verschwunden. Die Blutungszeit betrug nur noch 1 Minute und der Wert des Plättchen-Antiplasmins betrug 24,6 Gamma Tyrosin/ml.

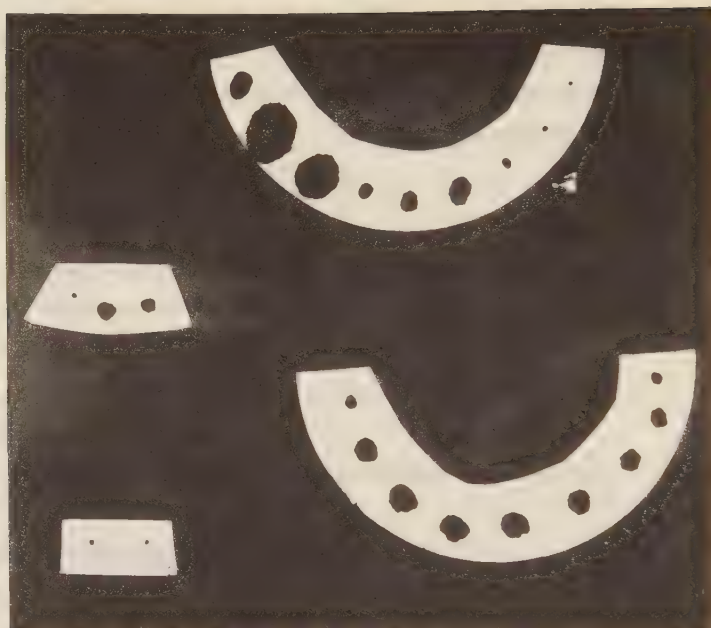
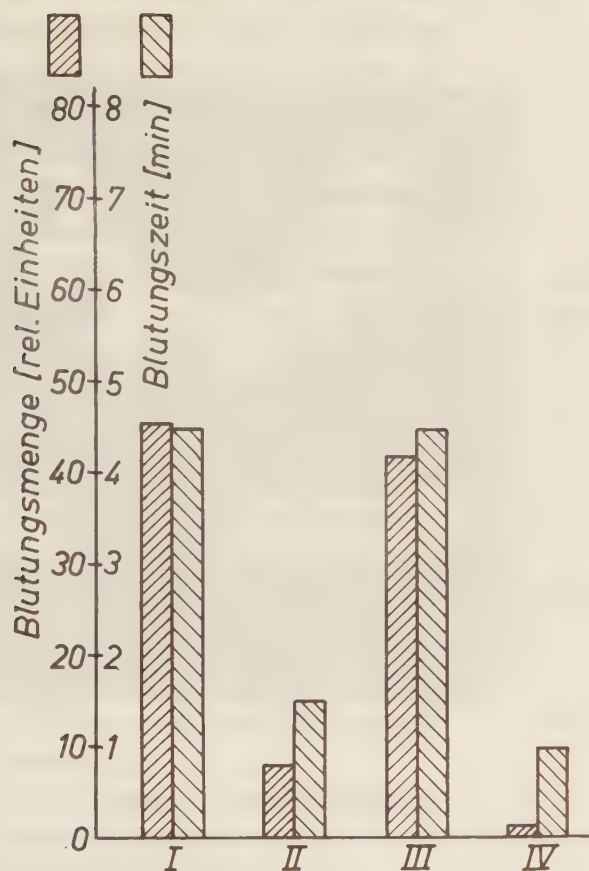


Abb. 9 G. L. Bestimmung des Plättchen-Antiplasmins und der Blutungszeit nach Duke (34a)

- I Die Blutungszeit vor Therapie mit "VF": $4\frac{1}{2}$ Min.
Plättchen-Antiplasmin: 5,6 Gamma Tyrosin/ml
- II Die Blutungszeit $1\frac{1}{2}$ Stunden nach Injektion von
3 Ampullen "VF": $1\frac{1}{2}$ Min.
Plättchen-Antiplasmin: 0 Gamma Tyrosin/ml
- III Die Blutungszeit 1 Tag nach Injektion von 3
Ampullen "VF": $4\frac{1}{2}$ Min.
Plättchen-Antiplasmin: 4,67 Gamma Tyrosin/ml
- IV Die Blutungszeit $1\frac{1}{2}$ Stunden nach wiederholter
Injektion von 3 Ampullen "VF": 1 Min.
Plättchen-Antiplasmin: 24,6 Gamma Tyrosin/ml



zu Abb. 9 Graphische Darstellung der Blutungszeit und der Blutungsmenge. Das Mass der Blutungsmenge ist der Mittelwert der Durchmesser der abgebildeten Blutstropfen.

Fall VI

Zur Anamnese: W., W.: Die Mutter des Patienten leidet an einer Blutungsneigung, die sich durch gelegentliche Epistaxis bemerkbar macht. Der Patient selbst hat seit seinem 5. Lebensjahr häufig unter zum Teil sehr heftigen Nasenbluten zu leiden. Zahnextraktionen sind mit vermehrtem Blutverlust begleitet, die eine Behandlung erforderlich machen.

Befunde: Blutungszeit: $3\frac{1}{2}$ Minuten
Gerinnungs- Heparintoleranztest: 3,1 Minuten
analyse: Prothrombinpotential: 100%
Prothrombin isoliert: 100%
Faktor V: 75%
Faktor VII: 58%
Prothrombinverbrauch: Serumprothrombin: 5,5%
Retraktion: 10%

Plättchenfunktionen: Plättchenadhäsivität: vor Rotation 102
nach Rotation 80
Schwund 22%

Plättchenagglutination: nach 8' = negativ
nach 20' = negativ

Rotationsthrombelastogramm:

r= nach Rotation gleichbleibend
mE= nach Rotation gleichbleibend

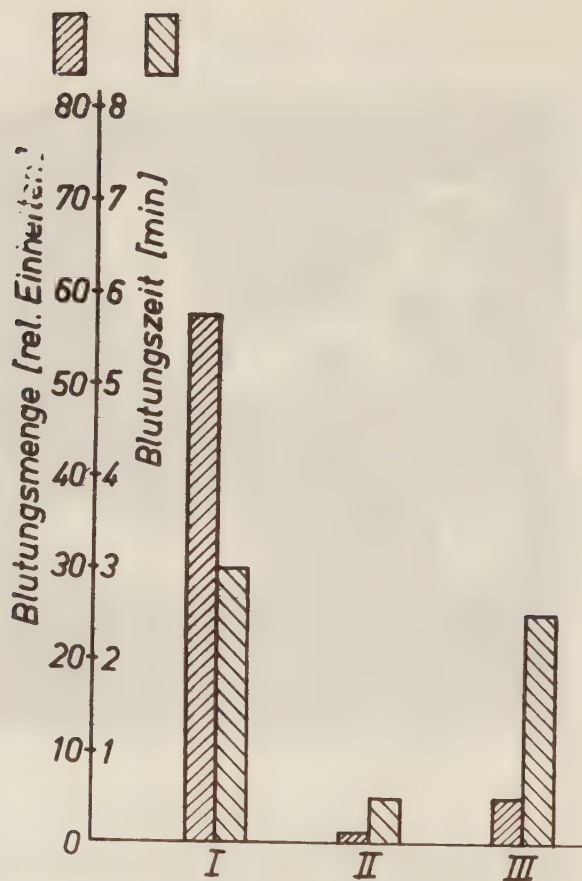
Plättchen-Antiplasmin: 16,7 Gamma Tyrosin/ml

Neben einer Insuffizienz des gesamten thrombozytären Systems liegt auch eine plasmatische Gerinnungsstörung vor (Mangel an Faktor V und VII). Differentialdiagnostisch sprechen die Ergebnisse für eine Thrombopathie vom Typ Glanzmann-Naegeli.



Abb. 10 W. W. Bestimmung des Plättchen-Antiplasmins und der Blutungszeit nach Duke (34a)

- I Die Blutungszeit vor Therapie mit "VF": 3 Min.
Plättchen-Antiplasmin: 16,7 Gamma Tyrosin/ml
- II Die Blutungszeit 1 Tag nach Injektion 1/4
Ampulle "VF": $\frac{1}{2}$ Min.
Plättchen-Antiplasmin: 38,5 Gamma Tyrosin/ml
- III Die Blutungszeit 2 Tage nach Injektion 1/4
Ampulle "VF": $2\frac{1}{2}$ Min.
Plättchen-Antiplasmin: 37,0 Gamma Tyrosin/ml



zu Abb. 10 Graphische Darstellung der Blutungszeit und der Blutungsmenge. Das Mass der Blutungsmenge ist der Mittelwert der Durchmesser der abgebildeten Blutstropfen.

Therapie: Durch langdauernde Substitutionstherapie wurde der Zustand des Patienten verbessert, die häufigen Blutverluste durch das starke Nasenbluten konnten eingeschränkt werden, und Zahnextraktionen wurden unter dem Schutz von "Vascular Factor" ausgeführt. Die Blutungszeit betrug am Tage der Untersuchung $\frac{1}{2}$ Minute und das Plättchen-Antiplasmin war auf einen Wert von 38,5 Gamma Tyrosin/ ml angestiegen. Die Untersuchung erfolgte 1 Tag nach Injektion 1/4 Ampulle "Vascular Factor".

Fall VII

Zur Anamnese: L., H.: Bei diesem Patienten wurden anlässlich einer Bronchoskopie schleimige Sekretion mit Blutbeimengungen beobachtet und an verschiedenen Stellen des Kehlkopfes kleine Blutungsherde unter der Schleimhaut festgestellt. Ausserdem besteht bei dem Patienten eine latente Blutungsneigung.

Befunde:

Gerinnungs-Heparintoleranztest: 2,29 Minuten

analyse: Faktor VIII: 150%

Faktor IX: 40%

Retraktion: 3%

Morphologie der Thrombozyten: Im Phasenkontrastmikroskop konnten wir beobachten, dass die Thrombozyten auffallend unterschiedliche Grössen hatten, wobei ein beachtlicher Teil als Riesenthrombozyten imponierte.

Plättchenfunktionen:

Plättchenadhäsivität: vor Rotation 205

nach Rotation 137

Schwund 33%

Plättchenagglutination: nach 8 Minuten: negativ

nach 20 Minuten: positiv

Rotationsthrombelastogramm:

r = nach Rotation ausreichend verkürzt

mE = Nach Rotation stark herabgesetzt

Fibrinogen: 408 mg%

Aufgrund der Untersuchungsergebnisse handelt es sich höchstwahrscheinlich um eine Thrombasthenie vom Typ Glanzmann. Das Plättchensystem weist eine so hochgradige Insuffizienz auf, dass es zu Blutungsmanifestationen in den Schleimhäuten kommt. Es wurde auch bei diesem Patienten eine vorübergehende Behandlung mit "Vascular Factor" durchgeführt. Während dieser Zeit untersuchten wir das Plättchen-Antiplasmin und fanden einen Wert von 38,9 Gamma Tyrosin / ml.

Fall VIII R., D.

Zur Anamnese: zwei Operationen, die im Jahre 1948 und 1957 durchgeführt wurden, verliefen ohne Komplikationen, während eine Herniotomie im Jahre 1962 starke Nachblutungen zur Folge hatte. Ausserdem war eine Hepatosplenomegalie festgestellt worden. Wegen einer plötzlichen Blutung in die Glutaeusmuskulatur wurde er in die II. Medizinische Klinik eingewiesen.

Befunde: Blutungszeit: $2\frac{1}{2}$ Minuten

Gerinnungs-; Heparintoleranztest: 2,32 Minuten

analyse: Prothrombinpotential: 100%

Prothrombin isoliert: 67%

Faktor V: 32%

Faktor VII: 60%

Faktor VIII: 102%

Faktor IX: 49%

Prothrombin: Serumprothrombin: 3,3%

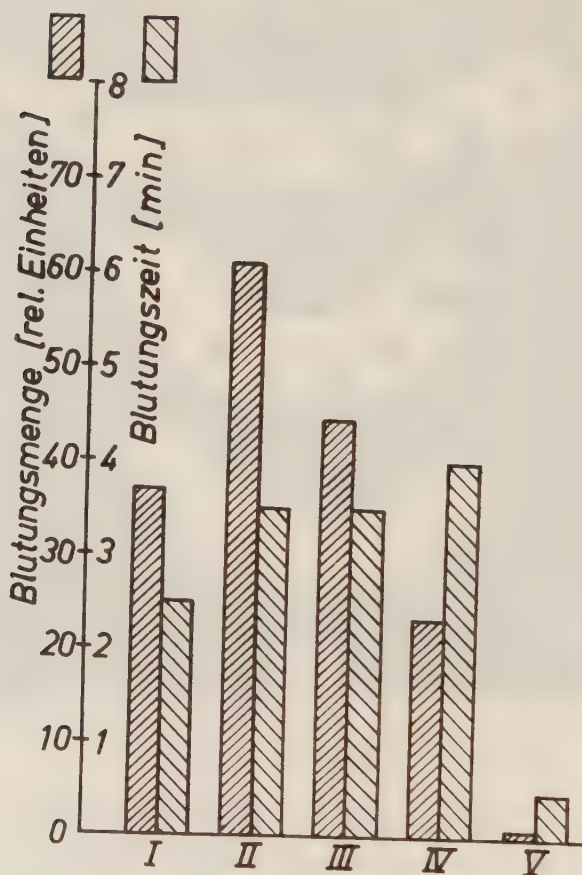
Retraktion: 51%

Thrombelastogramm: $r=11'$, $K_1=34$, $K_2=23,5'$, $mE=141'$



Abb. 11 R. D. Bestimmung des Plättchen-Antiplasmins und der Blutungszeit nach Duke (34a)

- I Die Blutungszeit vor Therapie mit "VF": $2\frac{1}{2}$ Min.
Plättchen-Antiplasmin: 15,78 Gamma Tyrosin/ml
- II Die Blutungszeit 1 Tag nach Injektion $\frac{1}{8}$ Ampulle "VF", aber vor Injektion einer weiteren $\frac{1}{8}$ Ampulle "VF": $3\frac{1}{2}$ Min.
- III Die Blutungszeit $1\frac{1}{2}$ Stunden nach Injektion $\frac{1}{8}$ Ampulle "VF": $3\frac{1}{2}$ Min.
- IV Die Blutungszeit 2 Tage nach Injektion $\frac{1}{8}$ Ampulle "VF" (1. Kontrolle): 4 Min.
- V Die Blutungszeit 2 Tage nach Injektion $\frac{1}{8}$ Ampulle "VF" (2. Kontrolle): $\frac{1}{2}$ Min.
Plättchen-Antiplasmin: 31,92 Gamma Tyrosin/ml



zu Abb. 11 Graphische Darstellung der Blutungszeit und der Blutungsmenge. Das Mass der Blutungsmenge ist der Mittelwert der Durchmesser der abgebildeten Blutstropfen.

Plättchenfunktionen:

Plättchenadhäsivität: vor Rotation 105
nach Rotation 44
Schwund 58%

Plättchenagglutination: nach 8' = positiv
nach 20' = positiv

Rotationsthrombelastogramm:

r = nach Rotation unverändert

mE = nach Rotation hochgradig
herabgesetzt

Plättchen - Antiplasmin: 15,78 Gamma Tyrosin/ml

Dieser Patient leidet infolge einer Osteomyelosklerose an einer symptomatischen Thrombopathie, die möglicherweise durch eine Leberparenchymschädigung bedingt ist. Die hämorrhagische Diathese ist in einer Hypokoagulämie begründet, andererseits aber mit einer vermehrten Plättchenadhäsivität und einem verminderten Plättchen-Antiplasmingehalt verbunden, die der Ausdruck einer partiellen Schädigung des Plättchensystems sind.

Therapie: Während seines Aufenthaltes in der Universitätsklinik wurde dieser Patient ebenfalls mit "Vascular Factor" behandelt. Damit wurde die Blutungszeit auf $\frac{1}{2}$ Minute verkürzt, der Plättchen-Antiplasmin-Gehalt auf 31,92 Gamma Tyrosin / ml erhöht, d.h. normalisiert und die Blutungsneigung beherrscht.

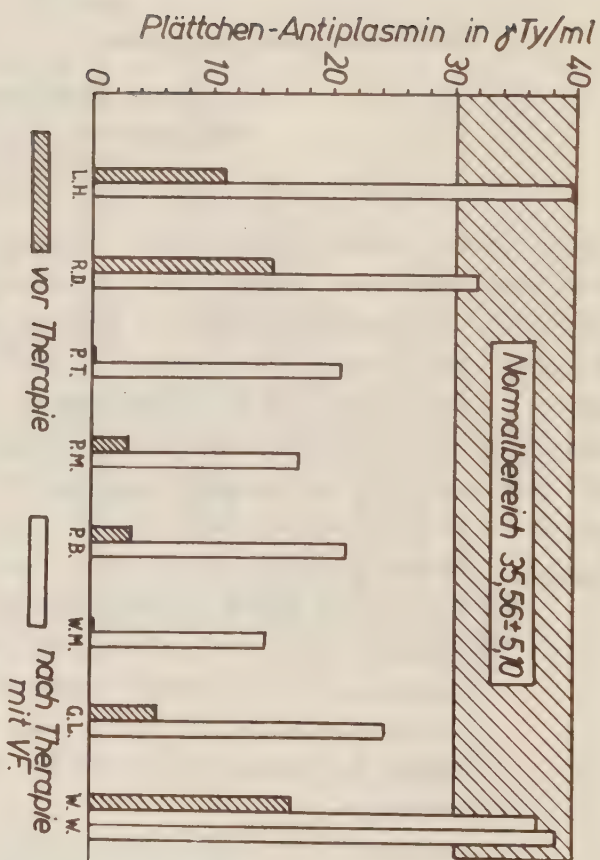


Abb. 12 Antiplasmingehalt der gewaschenen Thrombozyten beim von Willebrand-Jürgens-Syndrom vor Therapie mit "VF" und nach der Therapie mit "VF"

V. Diskussion

Als Ergebnis unserer Untersuchungen hat sich gezeigt, dass es gelingt, therapeutisch den Gehalt der Thrombozyten an Antiplasmin zu erhöhen. Es ist naheliegend, hiermit zumindest einen Teil der therapeutischen Wirkung des Präparates Vascular Factor zu erklären.

Es besteht kein Zweifel darüber, dass dabei die Steigerung der antifibrinolytischen Wirksamkeit der Plättchen nach Injektion eines derartigen Präparates - welches vorwiegend ein Peptidgemisch darstellt - nicht die einzige Wirkung auf den günstigen Hämostaseeffekt sein kann. Dieses geht daraus hervor, dass man mit anderen Antifibrinolytika keine Verkürzung der Blutungszeit erreichen kann.

In der letzten Zeit gewann die Therapie der gesteigerten Thrombolyse und Fibrinolyse zunehmend an Bedeutung, und verschiedene antifibrinolytische Stoffe wurden beschrieben. Als wirksamster synthetischer Inhibitor kann wohl die Epsilon-Aminocapronsäure gelten. Während kleinere Mengen dieser Substanz (5 Gamma / ml Blut) die Plasminwirkung verstärken (3, 38), sind grössere Dosen (100 Gamma / ml Blut) als nichtkompetitiver Plasmininhibitor wirksam (38). Der wichtigste Angriffspunkt der Epsilon-Aminocapronsäure ist die Inhibition der Umwandlung des Plasminogens in Plasmin. Bekannt ist aber auch die Hemmung der proteolytischen Spaltung des Fibrins durch das Plasmin, die kompetitive Hemmung der Plasmin-Fibrinogen-Reaktion (6), sowie die Inhibition des bisher noch nicht isolierten Aktivators des Plasminogens (38).

Von Beck und Mitarbeitern (5) wird ein aus Rinderparotis gewonnener Inhibitor von Kallikrein und Trypsin genannt. Diese Substanz mit Antiplasmin-Wirkung hemmt in niedrigen Konzentrationen die Proteolyse von Plasmafaktoren, während erst höhere Konzentrationen die eigentliche Fibrinolyse hemmen. Die genannten Autoren empfehlen aus diesem Grunde für die Therapie eine Kombination von Epsilon-Aminocapronsäure und Kallikrein-Inhibitor.

Deutsch und Fischer (11) beschreiben Trasylol und Iniprol als kompetitive Inhibitoren der Aktivierung und Aktion des Plasmins.

Nach Donner (12) und Niewiarowska (51) sollen Dicumarolderivate die Fibrinolyse hemmen, indem sie den Antiplasminspiegel des Blutes erhöhen. Die physiologische Bedeutung des Plättchen-Antifibrinolytins dürfte nun vornehmlich in einer sinnvollen, zusätzlichen Sicherung gegen verschiedene Formen von Sekundär- und Spätblutungen darstellen.

Nach Lüscher (45) und anderen Autoren nehmen die Thrombozyten eine zentrale Stellung im Vorgang der Blutgerinnung ein.

Wird eine Verwundung eines kleineren Gefäßes gesetzt, haften die Blutplättchen an den Wundrändern zunächst durch passives Festkleben. Als nächster Schritt folgt nun die "visköse Metamorphose" der Thrombozyten. Durch das Klebrigwerden derselben in dieser Phase wird die Bildung eines oft grösseren Plättchenpfropfes ermöglicht.

Während die primäre Hämostase durch die Entstehung und das Anwachsen solcher grösserer Plättchenaggregate gekennzeichnet ist, besteht indessen die Gefahr, dass es im weiteren Verlauf zu einer Lockerung, bzw. sogar zu einem Aufbrechen dieser Plättchenaggregate kommt, womit sich die in der Klinik und

besonders in den operativen Fächern bekannten Spätblutungen (nach Tonsillektomie, Zahnextraktionen usw.) erklären. Die Wiederauflösung der gebildeten Plättchenaggregate kommt dabei durch die Wirkung der in allen Organen in unterschiedlicher Konzentration vorhandenen Gewebsfibrinokinase zustande. Wie wir eingangs beschrieben haben, bedarf dabei die Gewebsfibrinokinase keines Proaktivators, sondern stellt einen komplettierten, hochaktiven Aktivator des Plasminogens dar. Die sinnvolle Wirkung des Plättchen-Antifibrinolyse ergibt sich daher zwanglos aus einer Hemmung des Gewebe - Fibrinolysemechanismus, der nicht für die primäre Hämostase, wohl aber für die sekundäre Verfestigung und Persistenz der Hämostasemechanismen eine entscheidende Rolle spielt.

Nach J. Jürgens (23) ist nun eine Identität von Plättchen-Antiplasmin und Plättchen-Fibrinogen nicht ausgeschlossen. Bis heute konnte jedoch noch nicht ermittelt werden, ob das Plättchen-Antiplasmin, bzw. Plättchenfibrinogen in den Thrombozyten gebildet wird oder ein Hemmstoff ist, der an der Plättchenoberfläche adsorbiert wird.

Wenn diese Frage somit auch bis heute noch völlig offen ist, so ergeben sich bereits schon jetzt in Bezug auf die Funktionsstörung der Thrombozyten bei der Pathogenese des von Willebrand-Jürgens-Syndrom, sowie deren therapeutische Beeinflussung durch geeignete Peptide die folgenden Gesichtspunkte:

1. Wenn beim von Willebrand-Jürgens-Syndrom das Plättchen-Antifibrinolyse herabgesetzt ist und damit möglicherweise auch Plättchenfibrinogen vermindert ist, so kann sich dieses bereits in der Bildung von Plättchenaggregaten mit herabgesetzter Festigkeit zeigen.

Nimmt man eine Identität von Plättchen-Antifibrinolyse mit Plättchen-Fibrinogen an, so bedeutet das, dass die Verminderung von Plättchen-Fibrinogen auch eine Verminderung des

"Substrates" Fibrinogen gegenüber der fibrinolytischen Wiederauflösung bedeutet. Plättchenaggregate aus Thrombozyten mit vermindertem Gehalt an Plättchen-Fibrinogen werden daher schon deswegen rascher einer lytischen Auflösung anheimfallen, weil das Substrat Fibrinogen auch schneller aufgelöst ist.

2. Das verminderte Plättchen-Antifibrinolysin der Thrombozyten beim von Willebrand-Jürgens-Syndrom wird sich weiter in einer verminderten Resistenz solcher Plättchenaggregate gegenüber der Wirkung von Gewebefibrinokinasen äussern, womit die Neigung zu sekundären Spätblutungen eine Erklärung finden würde.
3. Die Injektion von geeigneten Polypeptidgemischen scheint zumindestens die in Punkt 2 erwähnte Funktionsstörung der Plättchen auszugleichen, indem der Effekt der Gewebefibrinolyse wieder blockiert wird.

Unsere Versuche haben gezeigt, dass die Thrombozyten in der Lage sind, grossmolekulare Eiweissabbauprodukte, wie sie das "VF" darstellt, an ihrer Oberfläche zu adsorbieren. Weiterhin konnten wir feststellen, dass diese Substanzen schwer abwaschbar, jedoch nach gewisser Zeit nicht mehr auf den Thrombozyten nachzuweisen sind. Zu diesem Zeitpunkt hat auch das Medikament seine therapeutische Wirksamkeit verloren. J. Jürgens (23) wies für das Plättchen-Antiplasmin eine stöchiometrische Reaktionskinetik nach. Das gleiche fanden wir für die Wirkungsweise des Präparates "Vascular Factor". Daher ist eine sehr genaue Dosierung von ausserordentlicher Bedeutung für den Erfolg der Therapie.

Unsere Behandlungsversuche mit einem derartigen Peptidgemisch sind damit nicht nur in rein therapeutischer Hinsicht für alle diejenigen hämorrhagischen Diathesen von therapeutischer Bedeutung, die mit einer Verlängerung der Blutungszeit

einhergehen, sondern sie erklären auch die beim von Willebrand-Jürgens-Syndrom klinisch immer wieder beobachteten guten Behandlungsergebnisse.

Unsere Untersuchungen gestatten weiterhin einen interessanten Einblick in die Physiologie der Thrombozytenfunktion bei der Hämostase, indem sie ein weiteres Beispiel dafür sind, dass die Thrombozyten in der Lage sind, sich mit den verschiedensten Stoffen zu beladen, die anscheinend besonders leicht in Form einer adsorptiven Speicherung auf ihrer Oberfläche angereichert werden können.

So ist bekannt, dass die Thrombozyten praktisch sämtliche plasmatischen Gerinnungsfaktoren ebenso wie Serotonin in adsorptiver Form beherbergen, und es fragt sich nur, wie diese im einzelnen unterschiedlich abwaschbar sind.

Fibrinogen, Faktor VIII und der Hagemann-Faktor werden besonders intensiv festgehalten und sind praktisch von der Oberfläche nicht zu entfernen (73).

In jedem Falle sprechen die Ergebnisse für eine zentrale Stellung der Thrombozyten im Ablauf der Blutgerinnung und in diesem speziellen Falle für eine Beteiligung der Blutplättchen an der Pathogenese des von Willebrand-Jürgens-Syndroms.

ZUSAMMENFASSUNG

Im allgemeinen Teil setzen wir uns mit der Problematik der Pathogenese des von Willebrand-Jürgens-Syndrom auseinander. Dabei zeigten wir auf, dass nach den derzeitigen Kenntnissen die Annahme berechtigt ist, neben einem plasmatischen Gerinnungsdefekt und Gefässanomalien, auch in den Thrombozyten einen wesentlichen Faktor für die Entstehung dieses Krankheitsbildes zu sehen.

Im zweiten Abschnitt beschrieben wir die Inhibitoren des fibrinolytischen Systems. Bisher sind das Plasma-Antiplasmin und das Plättchen-Antiplasmin genauer untersucht worden. Norman definiert als Plasma-Antiplasmin einen "immediate" und einen "slow" oder "progressive" Inhibitor. Diese beiden Hemmstoffe der Fibrinolyse unterscheiden sich vor allem in ihrer Reaktionskinetik, sowie chemischen und physikalischen Eigenschaften. Von anderen Autoren konnten diese Befunde bestätigt werden.

Das Plättchen-Antiplasmin wurde im besonderen von Johnson, Alkjaersig, Murphy und J. Jürgens untersucht. Diese Autoren sind übereinstimmend der Auffassung, dass dem Plättchen-Antiplasmin eine nicht zu unterschätzende Rolle bei der Aufrechterhaltung der normalen Hämostase zukommt.

Aus dieser Erkenntnis ergibt sich der erste Punkt der Thematik des speziellen Teiles, nämlich der verminderte Gehalt der Thrombozyten an Antiplasmin beim von Willebrand-Jürgens-Syndrom. J. Jürgens untersuchte 15 Patienten mit diesem Krankheitsbild und fand bei allen einen herabgesetzten Wert dieses Inhibitors.

Die Patienten werden seit einigen Jahren in der II. Medizinischen Universitätsklinik, Frankfurt, erfolgreich mit "Vascular Factor" behandelt. Es handelt sich um ein Medikament, dass aus frischen Rindergefässen und Plasmaglobulin gewonnen wird.

Es stellt grossmolekulare Eiweissabbauprodukte in einer definierten Peptidmischung dar.

Bisher konnte noch keine ausreichende Erklärung für den positiven therapeutischen Effekt dieses Medikamentes gegeben werden. Deshalb untersuchten wir das Präparat auf seinen Antiplasmingehalt, und die Versuche ergaben, dass "Vascular Factor" Antiplasmin enthält. Daraufhin wurde von uns geklärt, ob der Antiplasmin-Gehalt der Thrombozyten nach Injektion von "VF" ansteigt. Die Ergebnisse bestätigten dies. 60-90 Minuten nach intravenöser Injektion von "VF" konnten wir eine Verkürzung der Blutungszeit, kombiniert mit einem Anstieg des Gehaltes an Plättchen-Antiplasmin feststellen.

Von 8 untersuchten Patienten hatten 5 eine echte Thrombopathie von Willebrand-Jürgens, 2 eine Thrombopathie vom Typ Glanzmann-Naegeli und ein Patient eine symptomatische Thrombopathie infolge einer Osteomyelosklerose.

Während der Behandlung mit "Vascular Factor" konnte die Blutungsneigung der Patienten beherrscht werden, operative Eingriffe und Zahnextraktionen verliefen ohne Zwischenfälle. Der Plättchen-Antiplasmin-Gehalt war in allen Fällen vermindert, bei zwei Patienten betrug er sogar 0 Gamma Tyrosin/ml. 1½ Stunden nach Applikation des Medikamentes konnten wir bei allen untersuchten Patienten einen Anstieg oder sogar eine Normalisierung des Inhibitorwertes feststellen.

Weil das Präparat "Vascular Factor" eine stöchiometrische Reaktionsweise hat, sind therapeutische Erfolge nur bei genauer Dosierung zu verzeichnen. Die Wirkungsdauer beträgt dann 6-8 Stunden. Mit dem Abklingen des therapeutischen Effektes von "Vascular Factor", d.h. bei erneuter Verlängerung der Blutungszeit sinkt auch der Plättchen-Antiplasmin-Gehalt

auf die pathologischen Werte ab.

Mit dem Präparat "Vascular Factor" existiert ein sehr wirksames Medikament, um die hämorrhagischen Diathesen im Sinne einer Blutstillung zu beeinflussen, ohne in jedem Falle auf Transfusionen von Blut oder Seren angewiesen zu sein.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. Achenbach, W. und R. Klesper
Angiohäophilie A und B
Folia Haemat. N.F. 1, 251 (1957)
2. Alkjaersig, N.
The antifibrinolytic activity of platelets, Blood plat.
Henry Ford Hospital
Intern. Symposium, London:Churchill, Ltd. 1960, S.329
3. Alkjaersig, N., A.P. Fletcher and S. Sherry
E-aminocaproic acid; an inhibitor of plasminogen activa-
tion
J. biol. Chem. 234 : 832 (1959)
4. Astrup, T.
Fibrinolysis in the organism
Blood 11, 781 (1956)
5. Beck, E., R. Schmutzler und F. Duckert
Inhibition of Fibrinolysis and Fibrinogenolysis in Man:
Comparison of Epsilon-Amino-Caproic-Acid and Kallikrein-
Inhibitor, Thromb. Diath. haem. Stuttg., 10, 106 (1963)
6. Bickford, A.F. and Taylor, F.B.
A comparison of the effect of epsilon-amino-caproic acid
on fibrinogenolysis and on plasmin induced casein digest.
Fed. Proc. 21, 63 (1962)
7. Biggs, R. und R.G. MacFarlane
Human Blood Coagulation and its Disorders
Blackwell SCI. Publ., 2. Aufl., Oxford (1957)
8. Biggs, R. and J.M. Matthews
The treatment of haemorrhages in von Willebrands disease
and the blood level of factor VIII (AHG)
Brit. J. Haemat. 9, 203 (1963)
9. Borchgrevink, Chr.F., O. Egeberg

9. Borchgrevink, Chr. F., , O. Egeberg, H. Chr. Godal and P. F. Hjort
The effect of plasma and Cohn's fraction I on the Duke and Ivy bleeding times in v. Willebrand's disease
Acta med. skand. 173, 235 (1963)
10. Celander, D.R. and Guest, M.M.
Factors influencing susceptibility of fibrin and fibrinogen to proteolysis by fibrinolysin
Arch. Biochem. and Biophysics, 72, 176, (1957)
11. Deutsch, E. and M. Fischer
Kinetics of the Inhibition of Plasmin by Trypsin Inhib.
Proc. 9th Congr. europ. Soc. Haemat., Lisbon 1963
(S. Karger, Basel, New York 1963)
12. Donner, L.
Einfluss der Dicumarolpräparate auf die Fibrinolyse
Schweiz. med. Wschr. 90, 1352 (1960)
13. Duke, W.W.
The pathogenesis of purpura haemorrhagica with especial reference to the part played by blood-platelets
Arch. Intern. Med. 10, 445 (1912)
14. Egeberg, O.
The effect of muscular exercise on hemostasis in von Willebrand's disease
Scand. J. clin. Lab. Invest. 15, 273 (1963)
15. Egeberg, O.
Changes in the activity of antihemophilic A factor (f. VIII) and the bleeding time associated with muscular exercise.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 5, 539 (1963)

16. Fletcher, A.P. and Sherry, S.
Thrombolytic (fibrinolytic) therapy for coronary heart disease, *Circulation* 22, 519 (1960)
17. Fletcher, A.P.: In H.R. Roberts, G.D. Geratz (editors)
Conference on thrombolytic agents
Chicago, U.S. Public Health Service 149 (1960)
18. Frey, J. und J. Jürgens
Therapie der hämorrhagischen Diathesen, Klinische Erfahrungen mit einem neuen Hämostatikum: Vascular Factor
Thromb. et Diath. haem., VIII, Suppl. I
19. Futukate, E., Shida, K., Arakawa, I. and Fato, K.
Analysis of fibrinolysis by the use of epsilon-amino-caproic acid: preliminary report
Blood 15, 600 (1960)
20. Gaarder, A.M., J. Jonsen, S. Laland, A.J. Hellem and T.A. Owren
Adenosine diphosphate in red cells as a factor in the adhesiveness of human blood platelets
Nature 192 : 531 (1961)
21. Hartert, H.
Das Thrombelastogramm
Klin. Wschr. 26, 577, (1948)
22. Hellem, A.H.
The adhesiveness of human blood platelets in vitro
Thesis. Scand. J. clin. Lab. Invest. 12: Suppl. 51 (1960)
23. Jürgens, J.
Ueber den Mangel an Plättchen-Antifibrinolysin beim von Willebrand-Jürgens-Syndrom
Klin. Wschr. 22, 1122, (1964)

24. Jürgens, J. und R. Jürgens
Untersuchungen zur Pathogenese der Thrombopathien
VII. Kongr. der Internat. Ges. Hämatol., Rom 1958 3
25. Jürgens, J.
Ueber Kombinationen von Thrombopathien mit kongenitalen
Herzfehlern und Gefäßanomalien.
26. Jürgens, J.
Verh. d. Dt. Ges. f. inn. Med.
62, Kongr. 1956, Verlag J.F. Bergmann, M 553
27. Jürgens, J.
III. Symposium d. Dt. Arb.-Gem. f. Blutgerinn.-Forsch.,
Ffm. 1958, F.K. Schattauer-Verlag, Vol. II (1958)
28. Jürgens, J.
Latente häm. Diathese durch infektiös.-toxische Plätt-
chenschädigung.
Proc. 6th Congr. Europ. Soc. Haemat., Copenhagen,
S. Karger, Basel, 2, 657 (1958)
29. Jürgens, J.
Untersuchung der Agglomerationsfähigkeit der Thrombo-
zyten in Jürgens, J. und F.K. Beller
Klinische Methoden der Blutgerinnungsanalyse
Georg Thieme Verlag, Stutt. 1959, S. 130
30. Jürgens, J.
The significance of the Hageman-factor for the effect
of wettable surface on thrombocytes.
Thromb. Diath. Haem. 7. 48 (1962)

31. Jürgens, J.

Therapeutische Fibrinolyse: I. Untersuchungen zur
Wirksamkeit von Streptokinase und Actase in vitro
Klin. Wschr., 42. Jg., 11, 534 (1964)

32. Jürgens, J.

Therapeutische Fibrinolyse: II. Untersuchungen zur
Wirksamkeit von Streptokinase und Actase in vivo
Klin. Wschr., 42. Jg., 11, 539 (1964)

33. Jürgens, J.

Aus: Effect in vivo on the spontaneous platelet
aggregation of an enzyme from *Hyspergillus oryzae*
Nature (London), im Druck

34. Jürgens, J.

Klinische Methoden der Blutgerinnungsanalyse
Thieme Verlag, Stuttg. (1959)

a) Seite 130

b) Seite 131

c) Seite 323

d) Seite 380

35. Jürgens, R., W. Lehmann, O. Wegelius, A.W. Eriksson
and E. Hiepler

Mitteilung über den Mangel an antihämophilem Globulin
(Faktor VIII) bei der aaländischen Thrombopathie
(von Willebrand-Jürgens)

Thromb. Diath. Haem. 1, 257 (1957)

36. Jürgens, R., Schulz, H.

Thrombozytenfunktionsbestimmungen mit Sequestren
Die Ultrastruktur der Thrombozyten

VII. Congr. int. Soc. Hemat., Rome (1958), Comm. no. 318

37. Johnson, S.A. and C.L. Schneider
The existence of antifibrinolysin activity in platelets
Science 117, 229 (1953)
38. Kappert, A.
Experimentelle und klinische Untersuchungen über arterielle Thrombogenese und Fibrinolyse
Helv. Med. Acta, Vol. 29, Fasc. 4 (1962), Suppl. XLI
39. Kowalski, E., M. Kopec and Z. Wegrzynowicz
Influence of Fibrinogen Degradation Products (FDP) on Platelet Aggregation, Adhesiveness and Viscous Metam.
Thromb. Diath. Haem. 10, 406, 1963
40. Lehmann, W.
Neuere Untersuchungen zur Thrombopathie (von Willebrand-Jürgens) auf den Aaland-Inseln (Finnland)
Acta Genet. Med. (Roma), Suppl. 2, 68 (1959)
41. Lehmann, W., J. Jürgens and A. Eriksson
The platelet function of the thrombopathy on the Aaland Islands, Thromb. Diath. haem., Stuttg.
42. Leuthardt, F.
Lehrbuch der physiologischen Chemie
Walter de Gruyter u. Co., Berlin, 14 Aufl.
43. Lüscher, E.F.
Bleed platelets- their relationship to the blood clotting system and to hemostasis
Vox Sang. (Basel) 5, 259, 271 (1960)
44. Lüscher, E.F.
Thrombozytenfaktoren
Ergebn. Physiol. 50, 1, (1959)

45. Lüscher, E.F.
Biochemische Eigenschaften und physiologische Bedeutung
der Blutplättchen
Schw. Med. Wschr. 40, 1021, (1959)
46. MacFarlane, R.G.
Critical review; The mechanism of haemostasis
Quart. J. Med., N.S. 10, 1 (1941)
47. Marx, R. und G. Jean
Zur Pathogenese der von Willebrand-Jürgens-Syndrome
Klin. Wschr. 42, 491 (1964)
48. Marx, R.
Wirkungsweise der Fibrinolytika und Antifibrinolytika.-
Experimentelle und therapeutische Fibrinolyse.
V. Hamburger Symposion über Blutgerinnung
Thromb. Diath. haem. Stuttg., Suppl. 3 (1962)
49. Merker, H.
Zyto- und Histochemie in der Hämatologie
9. Freiburger Symposion, Diask. p. 449, Springer-Verlag
Berlin, Göttingen, Heidelberg (1963)
50. Moriau, M., S.J. de Vries et H.J. Dik
Les inhibiteurs de la fibrinolyse et le dosage de
l'activité antiplasminique physiologique et pathologique
Thromb. Diath. haem. 10, 355 (1963)
51. Niewiarowska, M. and Wegrzynowicz, E.
Influence of dicoumarol derivatives on plasma fibrino-
lytic system.
Thromb. Diath. haem. Stuttg. 3, 279 (1959)

52. Nilsson, I.M., M. Blombäck, E. Jorpes, B. Blombäck
and S. A. Johansson
von Willebrand's disease and its correction with
human plasma fraction 1-0
Act. med. scand. 159 : 179 (1957)
53. Nilsson, I.M., M. Blombäck and B. Blombäck
v. Willebrand's disease in Sweden. Its pathogenesis
and treatment, Acta med. scand. 164, 253 (1959)
54. Nilsson, I.M., M. Blombäck, v. Francken, II
On an inherited autosomal Hemorrhagic Diathesis with
Antihemophilic Globulin (AHG) Deficiency and prolonged
Bleeding Time
Acta Med. Scand. Vol. 159, 35 (1957)
55. Nilsson, I.M., M. Blombäck and B. Blombäck
The use of Human Antihaemophilic Globulin (Fraction I-0)
in Haemophilia A and in von Willebrand's Disease
Acta Haematologica 24, 116 (1960)
56. Norman, P.S.
Studies of the Plasmin System
II. Inhibition of Plasmin by Serum or Plasma
J. exp. Med. 108, 53 (1958)
57. Norman, P.S., Hill, B.M.
Studies of the plasmin System
III. Physical Properties of the two Plasmin Inhibitors
in Plasma, J. exp. Med. 108, 638 (1958)
58. Oedegaard, A.E., B.A. Skalleberg und A.J. Hellm
Increased Activity of "Anti-Willebrand Factor" in
Diabetic Plasma.
Thromb. Diath. haem. Stuttg. 11, 27 (1964)

59. Quattrin, N.
Gegenwärtiger Stand unserer Kenntnisse über die
Thrombopathien, Blut 2, 135 (1956)
60. Ratnoff, O. D., I.H. Lepow and L. Pillemer
The multiplicity of plasmin inhibitors in human serum
demonstrated by the effect of primary amino-compounds.
Bull. Johns Hopk. Hosp. 94 : 169 (1954)
61. Salzmänn, E.W.
Measurement of platelet adhesiveness
J. Lab. clin. Med. 62 : 724 (1963)
62. Schulmann, T., C. H. Smith, M. Erlandson, E. Fort
and R. E. Lee
Vascular hemophilia
J. Pediat. 18, 347 (1956)
63. Shulman, N.R.
I. Studies on the inhibition of proteolytic enzymes
by serum. II. Demonstration that separate proteolytic
inhibitors exist in serum, their distinctive properties
and their specificity of action.
J. exp. Med. 95 : 593 (1952)
64. Shamash, Y. and A. Rimón
The Plasmin Inhibitors of Plasma
I. A. Method for their Estimation.
Thromb. Diath. Haem. XII. 119 (1964)
65. Sherry, S., R.J. Lindemeyer, A.P. Fletcher, N. Alkjaers.
Studies of enhanced fibrinolytic activity in man
J. clin. Invest. 38 : 810 (1959)

66. Stefanini, M. and J.S. Murphy
Studies of Platelets
XIV. Human Platelets as Source of Antifibrinolysin
J. clin. Invest. 35, 355, (1956)
67. Vainer, H. et J. Caen
Utilisation d'un test photométrique pour l'étude de
l'effet de l'ADP sur les plaquettes sanguines.
Nouv. Rev. franc. Hémat. 3 : 149 (1963)
68. von Willebrand, E.A.
Hereditär pseudohemofili
Finsk. Läkarsällsk. Handl. 68, 87, (1926)
69. von Willebrand, E.A. und R. Jürgens
Ueber ein neues vererbbares Blutungsäbel: Die konstitutionelle Thrombopathie
Dtsch. Arch. Klin. Med. 175, 453 (1933)
70. Wit, Dudok de, CHR.
Investigations on the Inhibitors of the Fibrinolytic System.
Thromb. Diath. haem. XII, 105 (1964)
71. Wright, H.P.
In Jürgens, J. und F.K. Beller
Klin. Methoden der Blutgerinnungsanalyse
G. Thieme Verlag, Stutg. (1959), 143
72. Zucker, M.B.
In vitro abnormality of the blood in von Willebrand's disease correctable by normal plasma
Nature 197 : 601 (1963)

72. Jürgens J.

II. Symp. Fond. V. Baldacci, Seteais 1957,

Ed. Omnia Medica, Pisa

Meinem hochverehrten Lehrer,
Herrn Professor Dr. J. Jürgens,
möchte ich für die Ermöglichung
der Arbeit, für sein förderndes
Interesse und seine jederzeit
grosszügige Unterstützung
herzlich danken.

Ebenfalls möchte ich Herrn Professor
Dr. J. Frey meinen besonderen Dank
für die Ermöglichung der Durch-
führung der experimentellen Arbeiten
in den Labors der II. Medizinischen
Klinik sagen.

L e b e n s l a u f

Am 22. Oktober 1940 wurde ich als Tochter des Facharztes für Chirurgie Dr. med. Hans Roch und seiner Ehefrau Gerda Roch in Jena/Thür. geboren. Von 1947 bis zum Jahre 1954 besuchte ich die Volksschule in Jena und wechselte anschliessend zur Oberschule über. Im Jahre 1958 bestand ich das Abitur. Da ich keine Gelegenheit hatte, in Jena Medizin zu studieren, verliess ich die Ostzone und kam nach Frankfurt am Main. Hier besuchte ich von Oktober 1958 bis März 1959 einen Ergänzungslehrgang für Ostzonenabiturienten und konnte mich nach bestandener Abschlussprüfung an der Medizinischen Fakultät der Johann-Wolfgang-Goethe Universität einschreiben. An der gleichen Universität legte ich auch im Oktober 1962 das Physikum ab. Nach bestandenem Staatsexamen habe ich die Absicht, meine Promotion abzulegen.

Frankfurt am Main, den 15.10.1965

Verzeichnis meiner akademischen Lehrer:

Prof. Dr., Dr., Dr. W. Artelt	Geschichte der Medizin
Prof. Dr. H. Betke	Arbeits- und Sozialhygiene
Priv.doz. Dr. H. K. Brehm	Frauenheilkunde und Geburtshilfe
Prof. Dr. K. Egle	Botanik
Prof. Dr. J. Frey	Innere Medizin
Prof. Dr. H. Frick	Anatomie
Priv.doz. R. Frowein	Psychiatrie und Neurologie
Prof. Dr. R. Geissendörfer	Chirurgie
Prof. Dr. I. Gerchow	Gerichtliche Medizin
Prof. Dr. H. Giersberg	Zoologie
Prof. Dr. K. Greven	Physiologie
Dr. Gräner	Versicherungsmedizin
Prof. Dr. E. Gäntz	Orthopädie
Prof. Dr. E. Heinz	Physiologische Chemie
Prof. Dr. L. Heller	Frauenheilkunde und Geburtshilfe
Prof. Dr. W. Hellriegel	Medizinische Strahlenkunde
Prof. Dr. F. Herrmann	Haut- und Geschlechtskrankheiten
Prof. Dr. K. Herzberg	Hygiene
Priv.doz. Dr. H. H. Hirsch	Chirurgie
Prof. Dr. P. Holtz	Pharmakologie
Prof. Dr. H. Hoff	Innere Medizin
Dr. Hübner	Pathologie
Priv.doz. Dr. H. J. Hübener	Physiologische Chemie
Prof. Dr. J. Jürgens	Innere Medizin
Prof. Dr. G. Kahlau	Pathologie
Prof. Dr. O. Käser	Frauenheilkunde und Geburtshilfe
Prof. Dr. P. Kramp	Humangenetik
Prof. Dr. C. Kulenkampf	Psychiatrie und Neurologie

Priv.doz. Dr. B. Kummer	Anatomie
Prof. Dr. E. Landes	Haut- und Geschlechtskrankheiten
Prof. Dr. H. Lapp	Pathologie
Prof. Dr. G. Leonhardi	Haut- und Geschlechtskrankheiten
Prof. Dr. H. Martin	Innere Medizin
Prof. Dr. H. Mittermaier	Hals-, Nasen-, Ohrenkrankheiten
Prof. Dr. H. Mäser	Physik
Prof. Dr. R. Ortmann	Anatomie
Prof. Dr. J. E. Otto	Augenheilkunde
Prof. Dr. K. Pirlet	Naturheilkunde
Prof. Dr. K.L. Radenbach	Innere Medizin
Prof. Dr. B. Rajewski	Medizinische Strahlenkunde
Prof. Dr.med.dent.J.v.Reckow	Zahnheilkunde
Prof. Dr. L. Roka	Physiologische Chemie
Prof. Dr. G. Rossberg	Hals-, Nasen-, Ohrenkrankheiten
Prof. Dr. W. Rotter	Pathologie
Prof. Dr. P. Royen	Chemie
Priv.doz. Dr. O. Schmith	Gesundheitsfürsorge
Prof. Dr. R. Schneider	Anatomie
Priv.doz. Dr. H. Schoberth	Orthopädie
Prof. Dr. W. Schroeder	Physiologie
Prof. Dr. H. J. Schumann	Pharmakologie
Prof. Dr. A.W. Schwenzler	Frauenheilkunde und Geburtshilfe
Prof. Dr. D. Starek	Anatomie
Prof. Dr. F. Strnad	Medizinische Strahlenkunde
Prof. Dr. R. Thiel	Augenheilkunde
Prof. Dr. E. Ungeheuer	Chirurgie
Prof. Dr. K. Weisse	Kinderheilkunde

Prof. Dr. K. Wezler

Physiologie

Prof. Dr. T. Wieland

Chemie

Prof. Dr. R. Zahn

Physiologische Chemie

Prof. Dr. H. Zimmermann

Pathologie

Prof. Dr. J. Zutt

Psychiatrie und Neurologie

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die der
Medizinischen Fakultät Frankfurt/Main zur
Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem
Titel:

"Untersuchungen zur medikamentösen Beein-
flussung des Plättchen - Antifibrinolytins
(- Antiplasmins) beim von Willebrand -
Jürgens - Syndrom"

in der II. Medizinischen Universitätsklinik unter
Leitung von

Herrn Professor Dr. J. Frey

mit Unterstützung durch

Herrn Professor Dr. J. Jürgens

ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei
der Abfassung der Arbeit keine anderen als die
in der Dissertation angeführten Hilfsmittel
benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen
Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung
zur Promotion eingereicht noch die vorliegende
Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Vorliegende Arbeit wird in folgendem Publikations-
organ veröffentlicht:

Frankfurt / Main, den 15.10.1965

